

Aus dem Institut für
Hygiene und Technologie der Lebensmittel
des Veterinärwissenschaftlichen Departments
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl: Univ.-Prof. Dr. Dr. h. c. mult. Andreas Stolle

Arbeit angefertigt unter Leitung von Frau PD Dr. Barbara Schalch

Prüfung der Effektivität eines CIP-Systems für die Reinigung und Desinfektion des Innenraums einer Tiefziehverpackungsmaschine

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Philipp Winter
aus Memmingen

München 2009

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München**

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Braun
Berichterstattein:	Priv.-Doz. Dr. Schalch
Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. Ammer

Tag der Promotion: 6. Februar 2009

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literatur.....	2
2.1	Biofilme	2
2.1.1	Quorum sensing.....	4
2.1.2	Beeinflussung der Biofilme.....	5
2.1.2.1	Von Mikroorganismen ausgehend.....	5
2.1.2.2	Äußere Einflussfaktoren.....	6
2.1.3	Auswirkungen und Folgen von Biofilmen.....	9
2.1.4	Prävention von Biofilmbildung	11
2.2	Reinigung und Desinfektion	12
2.2.1	Physikalische und biologische Reinigung.....	12
2.2.2	Chemische Reinigung und Desinfektion.....	13
2.2.2.1	Reinigungs- und Desinfektionsablauf	14
2.2.2.2	Cleaning in Place-Systeme	15
2.2.2.3	Reinigung und Desinfektion beeinflussende Faktoren.....	15
2.2.2.4	Reinigungs- und Desinfektionsmittel in der Lebensmittelhygiene	19
2.2.2.4.1	Reinigungsmittel	19
2.2.2.4.2	Desinfektionsmittel.....	20
2.2.2.5	Auswirkungen von Reinigung und Desinfektion auf die Umwelt	24
2.2.3	Rechtlicher Rahmen für Reinigung und Desinfektion	25
2.2.4	Überprüfung des Reinigungs- und Desinfektionserfolges.....	26
2.2.4.1	Überprüfung der Erreichbarkeit von Oberflächen durch Reinigung und Desinfektion	27
2.2.4.2	Methoden zur Überprüfung des Reinigungs- und Desinfektionserfolgs	27
2.2.5	Hygienedesign	32
3	Eigene Untersuchungen.....	38
3.1	Vorversuch zur Messung von Wasserdruck und Wasserauswurfmengen	42
3.2	Überprüfung der Reinigungseffektivität des CIP-Systems	42
3.2.1	Riboflavintest	43
3.2.1.1	Material	43
3.2.1.2	Methoden	44
3.2.2	NAD-Schnelltest.....	45
3.2.2.1	Material	45
3.2.2.2	Methoden	47
3.2.3	Nass-Trocken-Tupferverfahren (NTT)	48
3.2.3.1	Material	49
3.2.3.2	Methoden	49

4	Ergebnisse.....	56
4.1	Riboflavintest	58
4.2	NAD-Schnelltest.....	59
4.2.1	Reinigungs- und Desinfektionsergebnisse in Bezug zur Oberflächenneigung	61
4.2.2	Reinigungs- und Desinfektionsergebnisse in Bezug zum Oberflächenmaterial ...	62
4.3	Nass-Trocken-Tupferverfahren	63
4.3.1	Keimzahlreduktion in Bezug zum Oberflächenmaterial	68
4.3.2	Keimzahlreduktion in Bezug zur Oberflächenneigung	69
5	Diskussion	72
5.1	Wasserdruck- und Wassermengenmessung an den Düsen	72
5.2	Auswahl der Prüfmethoden	73
5.3	Riboflavintest	74
5.4	NAD-Test	75
5.5	Nass-Trocken-Tupferverfahren	77
5.5.1	Auswahl des Verfahrens zur Bestimmung des mikrobiologischen Status	77
5.5.2	Kontaminationsmedium.....	78
5.5.3	Bewertung der Ergebnisse	79
5.6	Bewertung der Aussagekraft der durchgeführten Testverfahren.....	83
5.7	Biofilmproblematik.....	84
5.8	Nicht durch das CIP-System gereinigte Teile	84
5.9	Vorschläge zur Verbesserung des CIP-Systems	85
6	Zusammenfassung.....	86
7	Summary	87
8	Anhang	88
9	Literaturverzeichnis	
10	Tabellenverzeichnis	
11	Abbildungsverzeichnis	

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

Abs.	Absatz
Aqua dest.	lat.: aqua destillata (destilliertes Wasser)
ATP	Adenosintriphosphat
<i>B. cereus</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
CIP	Cleaning in Place
DIN	Deutsches Institut für Normung e. V.
DOC.	engl.: document (Dokument)
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EHEDG	European Hygienic Engineering & Design Group
EPS	Extrazelluläre polymere Substanzen
et al.	lat.: et alteri (und andere)
GKZ	Gesamtkeimzahl
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Point
KbE	Kolonie bildende Einheit(en)
LFGB	Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
n	Anzahl
NAD(P)	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (-Phosphat)
Nr.	Nummer
NTT-Verfahren	Nass-Trocken-Tupfverfahren
<i>P. fluorescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
PC-Agar	Plate-Count-Agar
PEHD	polyethylene of high density
pH	potentia Hydrogenii
PVC	Polyvinylchlorid
Quats	Quaternäre Ammoniumverbindungen
R_a	Mittenrauwert (Rauigkeit einer technischen Oberfläche)
RLU	Relative Light Units
R/D	Reinigung und Desinfektion
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
spp.	Species
UV	ultraviolett
VDMA	Verband deutscher Maschinen- und Anlagenbauer e. V.
VO	Verordnung

1 Einleitung

Gastroenteritiden traten in Deutschland in den vergangenen Jahren in steigender Anzahl auf und sind neben respiratorischen Krankheiten die häufigsten Infektionskrankheiten überhaupt (MEHNERT et al. 2000). Über 120.000 Fälle von *Campylobacter*-Enteritiden und Salmonellen wurden 2007 in Deutschland gemeldet (N.N. 2008a). Das tatsächliche Vorkommen liegt allerdings um ein Vielfaches höher, wobei Ausbrüche von Gastroenteritiden zunehmend diffuser und geographisch weiter gestreut auftreten (N.N. 2000), was nicht zuletzt am globalen Lebensmittelhandel liegt.

Der Handel auf dem internationalen Markt wird erst durch fertig verpackte Lebensmittel möglich, die auf Grund guter Konservierungs- und Verpackungsstrategien meist lange Mindesthaltbarkeitsdaten aufweisen. Dazu wurden im Jahr 2007 in Deutschland 3,8 Millionen Tonnen Kunststoff in einem Wert von 11 Milliarden Euro verbraucht (N.N. 2008c).

Nicht unter besten hygienischen Bedingungen hergestellte oder vertriebene Lebensmittel können dabei als Vektoren für Krankheitserreger fungieren, mit denen sie während Produktion, Verarbeitung oder Vertrieb kontaminiert wurden. Zum Schutz der Verbrauchergesundheit und zur Produktion sicherer, unbedenklicher Produkte sind Lebensmittelhersteller deshalb gefordert, Kontaminationsquellen möglichst gering zu halten bzw. auszuschalten. Die Hauptverantwortung für die Lebensmittelsicherheit und die Haftung für auftretende Gesundheitsschäden werden im aktuellen Lebensmittelrecht durch Artikel 1, Abs. 1, Satz a der VERORDNUNG (EG) 852/2004 und durch das PRODUKTHAFTUNGSGESETZ (1989) dem Lebensmittelunternehmer zugeschrieben.

Bezüglich der Konstruktion von Maschinen für die Lebensmittelproduktion existieren von verschiedenen Organisationen erstellte Leitlinien über Gestaltungsmöglichkeiten in hygienischem Design. Dazu zählen abgeschrägte Oberflächen, geeignete Werkstoffe sowie eine möglichst offene und zugängliche Bauweise zur Gewährleistung effektiver Reinigungs- und Desinfektionsabläufe. Als Ersatz der manuellen Reinigung beziehungsweise zur Reinigung und Desinfektion schlecht zugänglicher Stellen werden so genannte „Cleaning in Place“ (CIP)-Systeme eingesetzt. Zur Validierung, ob Maschinen mit den Hygieneanforderungen übereinstimmen, schlägt die DIN EN ISO 14159 (2008) Praxistests vor.

In der vorliegenden Studie wurde die Effektivität von CIP-System und Hygienedesign einer neuen Tiefziehverpackungsmaschine geprüft.

2 Literatur

Für einige Mikroorganismen herrschen in der Lebensmittelproduktion bezüglich Nährstoffaufkommen ideale Bedingungen. Durch gezielte Manipulationen wie Absenken oder Anheben von intrinsischen und extrinsischen Faktoren bei Lebensmitteln kann die Vermehrung von Bakterien reduziert werden, der Gefahr der Bildung von Biofilmen kann allerdings nur durch gründliche und effektive Reinigung und Desinfektion sowie durch Produktionsanlagen, die gemäß Hygienesdesign gestaltet sind, entgegengewirkt werden.

2.1 Biofilme

Biofilme sind Ansammlungen gleicher oder verschiedener Bakterien-, Pilz-, Algen-, Protozoen- und Viren-Species, die in einer biologisch aktiven Matrix mit extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) verbunden sind (ZOBELL 1943, MARSHALL 1992, COSTERTON et al. 1995, GENIGEORGIS 1995, CHMIELEWSKI und FRANK 2003, PARKAR et al. 2004, CUNNINGHAM et al. 2006, N.N. 2008b). Über 500 Bakterienspecies wurden bisher in Biofilmen gefunden (CUNNINGHAM et al. 2006). Biofilmbildende Organismen sammeln sich an Grenzflächen, wie beispielsweise Flüssig-/Festphase oder Flüssigkeit/Gas. Der größte Teil aller Biofilme ist zu finden auf festen Oberflächen mit Kontakt zu Wasser (ZOTTOLA und SASAHARA 1994). Bedeutung besitzen sie zum Beispiel in Böden, Sedimenten, auf Gestein und Pflanzen, bei Mensch und Tier, in der Medizin (COSTERTON et al. 1995) und in der Industrie (JOUENNE et al. 2004). Biofilme sind produktionsrelevant und besitzen technologische Bedeutung, z. B. bei der Essigproduktion oder in der Abwassertechnik (CHARACKLIS und COOKSEY 1983, MIURA et al. 2007).

Die von Mikroorganismen gebildeten EPS gewährleisten den Zusammenhalt eines Biofilms und bieten ihnen darin Schutz gegenüber der Umgebung (CARPENTIER und CERF 1993). Nach Anhaftung an einen Untergrund produzieren die Mikroorganismen vor allem Polysaccharide (COSTERTON et al. 1987), aber auch Proteine, Phospholipide, Nukleinsäuren, Surfactant, Cellulose und weitere Substanzen können enthalten sein und zur Stabilisation des Biofilms beitragen. Zu mehr als 90 Prozent bestehen die EPS aus Wasser (COSTERTON und IRVIN 1981, MATTILA-SANDHOLM und WIRTANEN 1992, MAYER et al. 1999, FLEMING und WINGENDER 2002, GRIMM et al. 2008). Biofilme enthalten oft große Mengen an Lebensmittelresten, hohen Mineralgehalt und abgestorbene Bakterien (CHMIELEWSKI und FRANK 2003).

In den EPS unter und zwischen den Mikrokolonien entstehen auf Grund kapillärer Wasserkanälchen poröse Strukturen. Über diese Kanälchen finden die Nahrungsversorgung und die Entsorgung von Stoffwechselprodukten statt (COSTERTON et al. 1995). Auch die Sauerstoffversorgung läuft auf diesem Weg ab (COSTERTON et al. 1995, GENIGEORGIS 1995). Im Inneren mancher Biofilme führt dies zu einer Limitierung von Sauerstoff, was das Zusammenleben aerober Mikroorganismen im Inneren und anaerober in äußeren Schichten des Biofilms ermöglicht (GENIGEORGIS 1995, POULSEN 1999).

Die Biofilmmzusammensetzung ist abhängig von den Bakterienspecies und der Zahl der verschiedenen Species (MATTILA-SANDHOLM und WIRTANEN 1992, COSTERTON et al. 1995) und erklärt die Existenz verschiedener Strukturen wie einlagiger, dreidimensionaler turm- oder pilzförmiger Gebilde sowie flockenartiger und körnchenförmiger Biofilme (ALLISON und SUTHERLAND 1987, BAGGE et al. 2001, JUHAS et al. 2005).

Der Nutzen für in Biofilmen organisierten gegenüber planktonartig lebenden Mikroorganismen liegt im Schutz vor schädlichen Lebensbedingungen wie Hitze, Austrocknung, ultraviolettem (UV-) Licht (MATTILA-SANDHOLM und WIRTANEN 1992, GENIGEORGIS 1995, BORE und LANGSRUD 2004), Röntgenstrahlung, pH-Wert-Schwankungen (N.N. 2008b) sowie zum Schutz vor Reinigungsmitteln, Desinfektionsmitteln und Antibiotika (KEWELOH 2006). Auch die höhere Standhaftigkeit gegenüber geringem Nährstoffaufkommen und geringer Wasserverfügbarkeit zeichnet Biofilmorganismen im Vergleich zu planktonartig lebenden Organismen aus (MITTELMAN 1998, HÄRKÖNEN et al. 1999). Die Fähigkeit von Mikroorganismen zur Oberflächenveränderung in Nährstoffmangelbereichen erkannten BROWN et al. (1977). Die Nährstoffverfügbarkeit ist gerade im Lebensmittelbereich hoch und für die Biofilmbildung ein wichtiger Faktor (REINEMANN et al. 1993). An Oberflächen sind im Vergleich zur flüssigen Phase höhere Nährstoffgehalte zu finden. Dies führt zu bevorzugter Biofilmbildung an diesen Stellen (HOOD und ZOTTOLA 1997).

Die Biofilmbildung wird in folgende Schritte eingeteilt (DAVEY und O'TOOLE 2000):

- Anhaftung (Adhäsion) von Mikroorganismen an Oberflächen (Substratum)
- Mikrokoloniebildung
- EPS-Produktion
- Biofilmreifung

Durch Schwerkraft, Diffusion und hydrodynamische Einflüsse erfolgt passive Anhaftung von anorganischen und organischen Molekülen wie Milch- oder Fleischproteinen und von Mikroorganismen an Oberflächen (CHARACKLIS 1981, KUMAR und ANAND 1998, CHMIELEWSKI und FRANK 2003, EXNER 2005). Zur aktiven Anlagerung von Mikroorganismen tragen Oberflächeneigenschaften von Bakterien wie Geißeln, Pili und Adhäsionsproteine bei.

Auch Veränderungen in der Zellphysiologie wie die Synthese von Polysacchariden und die Aggregation von Zellen beeinflussen die Anhaftung (VAN LOOSDRECHT et al. 1990, DAVEY und O'TOOLE 2000).

MARSHALL et al. (1971) teilten die Adhäsionsphase in ein reversibles und ein irreversibles Anhaftungsstadium ein. Durch schwache Interaktionen zwischen Bakterienzellen und dem Substratum wird die reversible Anhaftung initiiert. Das Entfernen eines Biofilms ist in dieser Phase beispielsweise durch Flüssigkeitsscherkräfte leicht möglich (MARSHALL et al. 1971). Während der folgenden irreversiblen Phase treten Dipol-Dipol-Kräfte und hydrophobe Wechselwirkungen sowie Wasserstoffbrücken-, ionische- und kovalente Bindungen auf. Direkter Kontakt der Bakterien zum Untergrund wird dadurch verhindert. Kontakt tritt aber durch verschiedene Strukturen auf der Bakterienoberfläche wie Geißeln, Fimbrien oder Pili auf, die den abstoßenden Kräften entgegentreten (ZOTTOLA und SASAHARA 1994). Diese physiologischen Prozesse, die zur irreversiblen Adhäsion der Bakterienzellen an ein Substrat beitragen, stehen unter genetischer Regulation. Durch verschiedene Genotypen entstehen bakterielle Subpopulationen mit speziellen Funktionen in Biofilmen (CHMIELEWSKI und FRANK 2003, BOLES et al. 2004).

Die Ausbildung von EPS hat in dieser Phase wichtigen Einfluss auf die Biofilmbildung. Dies hat zur Folge, dass zur Entfernung von Biofilmen nun stärkere Kräfte benötigt werden (MARSHALL et al. 1971).

Andere Wissenschaftler teilten die Bildung von Biofilmen nicht wie MARSHALL et al. (1971), in zwei Schritte, sondern in drei (BUSSCHER und WEERKAMP 1987, NOTERMANS et al. 1991) bzw. in fünf Schritte (CHARACKLIS und COOKSEY 1983) ein. CHARACKLIS und COOKSEY (1983) erwähnen zuerst den Transport zur benetzten Oberfläche (1), gefolgt von der Anlagerung eines Belags aus organischen und anorganischen Molekülen (2). Darauf folgen das Anhaften von mikrobiellen Zellen an die benetzte Fläche (3), Reaktionen innerhalb des Biofilms (4) und zuletzt dessen Ablösung (5).

2.1.1 Quorum sensing

Durch interzelluläre Kommunikation können Mikroorganismen in Biofilmen ihr Verhalten koordinieren und an veränderte Umweltbedingungen anpassen. Diese Kommunikation zwischen gleich- oder verschiedenartigen Bakterien heißt „Quorum sensing“ (DAVIES et al. 1998, PESCI et al. 1999, DAVEY und O'TOOLE 2000, READING und SPERANDIO 2006, COSTERTON et al. 2007). Eigenschaften von Mikroorganismen wie Produktion von EPS, Adhäsion, Motilität, Virulenz oder Biofilmbildung werden durch Quorum sensing - abhängig von der Populationsdichte - reguliert (WHITEHEAD et al. 2001, FEDERLE und BASSLER

2003, JOUENNE et al. 2004, COSTERTON et al. 2007, RADER et al. 2007). Dies wird durch komplexe Regulationskaskaden gewährleistet (VON BODMAN 2003, ZHANG und DONG 2004, JUHAS et al. 2005). Auf Grund der Fähigkeit auf hormonähnliche Moleküle (Autoinducer) anzusprechen, reagieren Mikroorganismen auf diese Signale durch Veränderung ihrer Genexpression (SAUER 2003, READING und SPERANDIO 2006, COSTERTON et al. 2007) und folglich ihres Phänotyps (AREVALO-FERRO et al. 2005). Je nach Species, Umweltbedingung und Genom produzieren Bakterien verschiedene Proteine (SAUER 2003) und verschiedene Anzahlen an Proteinen (HIROSE et al. 2000, RAM et al. 2005). Auch das Alter von Biofilmen beeinflusst die Zahl der gebildeten Proteine (OOSTHUIZEN et al. 2002). Nach READING und SPERANDIO (2006) und COSTERTON (2007) wird beispielsweise Acyl-Homoserin-Lacton bevorzugt von gramnegativen Bakterien als Signalmolekül genutzt. Peptide wie Peptidthiolacton werden hauptsächlich von grampositiven Bakterien sezerniert.

2.1.2 Beeinflussung der Biofilme

2.1.2.1 Von Mikroorganismen ausgehend

Biofilme aus verschiedenen Bakterienspecies sind negativen Einflüssen aus der Umwelt gegenüber widerstandsfähiger als Filme aus einzelnen Species (KUMAR und ANAND 1998, BOLES et al. 2004). Beispielsweise haften Listerien in gemischten Biofilmen mit Flavobakterien besser an Oberflächen und weisen eine längere Überlebenszeit auf als in Einzel-Species-Biofilmen (BREMER et al. 2001). Auch verschiedene Serotypen von Listerien haften unterschiedlich stark an Oberflächen an (NORWOOD und GILMOUR 2000). Bestimmte Genotypen von Listerien verursachen eher persistente Kontaminationen an Lebensmittelanlagen als andere (AUTIO et al. 2003). LEE et al. (2008) stellten fest, dass die Adhäsionsstärke und die Biofilmbildungsrate bei *Acinetobacter baumannii* in Isolaten mit β -Lactamase-Genen höher waren als in Isolaten ohne diese Gene.

Auch Veränderungen in der Hydrophobie beeinflussen das mikrobiologische Geschehen in Biofilmen (MAFU et al. 1991, ZOTTOLA und SASAHARA 1994, KUMAR und ANAND 1998). Bakterien haben eine negative Oberflächenladung und verhalten sich gewöhnlich wie hydrophobe Partikel (BOULANGE-PETERMANN 1996). Sporen haften auf Grund ihrer höheren Hydrophobie besser an Oberflächen als vegetative Zellen (RÖNNER et al. 1990, HUSMARK und RÖNNER 1992, FAILLE et al. 2001, FLINT et al. 2001). Der Grad der Hydrophobie kann sich im Verlauf der Vermehrung verändern (BOULANGE-PETERMANN 1996).

Zum Ausmaß von Biofilmen trägt ebenso die jeweilige mikrobielle Wachstumsphase bei (PEYTON und CHARACKLIS 1992, PICIOREANU et al. 2001, PARKAR et al. 2003). PARKAR et al. (2003) erkannten bei einem Versuch mit thermophilen *Bacillus*-Species-Kulturen,

dass diese nach einem wiederholbaren Muster nach 30 Stunden begannen eine Substanz zu produzieren, die die Reduktion der Bakterienzahl zur Folge hatte und der anschließend eine Wiedererholungsphase nachfolgte.

Bei individuell voneinander abweichenden Bedingungen haften verschiedene Bakterien unterschiedlich stark an Oberflächen an (REINEMANN et al. 1993, GENIGEORGIS 1995, LINDSAY et al. 2000). Tabelle 2.1 bietet eine Übersicht über pH- und Temperatur-Optima verschiedener Bakterien, bei denen stärkste Anhaftung auf rostbeständigem Edelstahl nachgewiesen wurde.

Tabelle 2.1 Parameter stärkster Anhaftung von Bakterien species auf rostbeständigem Edelstahl

Bakterien	pH-Werte	Temperatur	Referenzen
<i>Listeria monocytogenes</i>	7	+ 30 °C	HERALD und ZOTTOLA 1988a
<i>Yersinia enterocolitica</i>	8-9	+ 21 °C	HERALD und ZOTTOLA 1988b
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8-9	Keine Angabe	STANLEY 1983
<i>Bacillus subtilis</i> 115	4 und 10	Keine Angabe	LINDSAY et al. 2000
<i>Bacillus pumilus</i> 122	4 und 10	Keine Angabe	
<i>Bacillus licheniformis</i> 137	4 und 10	Keine Angabe	
<i>Bacillus cereus</i> 144	7	Keine Angabe	

Für die Anhaftung von Sporen an rostbeständigem Stahl stellen Varianten im Temperaturbereich von + 20 °C bis + 55 °C keinen wichtigen Faktor dar. Dies wurde von FLINT et al. (2001) in einem Versuch mit *Bacillus stearothermophilus*-Sporen bei verschiedenen Versuchstemperaturen (+ 20 °C, + 37 °C und + 55 °C) erkannt.

2.1.2.2 Äußere Einflussfaktoren

Oberflächen haben in Form, Ausgestaltung, substanzieller Zusammensetzung und Zustand bedeutenden Einfluss auf die Biofilmbildung (REINEMANN et al. 1993, MITTELMAN 1998, STORGARDS et al. 1999, HORN et al. 2002). Je rauer Oberflächen sind, desto leichter stellt sich deren Besiedelung dar und desto stabiler ist die Haftung von Biofilmen (BARNES et al. 1999, DE QUEIROZ und DAY 2007). Das in der Lebensmittelindustrie am häufigsten eingesetzte Oberflächenmaterial ist nicht rostender Stahl (BOULANGE-PETERMANN 1996). Auch darauf findet man entgegen dem makroskopischen Bild mikroskopisch kleine Risse und Kratzer (ZOTTOLA und SASAHARA 1994), die jedoch im Vergleich zu solchen in Aluminium weniger tief und somit weniger stark prädisponiert sind, Schmutzablagerungen und Mikroorganismen aufzunehmen (KUMAR und ANAND 1998). In Fugen, Ventilen und Dichtungen

können sich besonders leicht Schmutz und Mikroorganismen ablagern und zu Biofilmbildung führen (WONG 1998). Hierfür werden bevorzugt Gummi, Teflon und Nylon verwendet. Ein erhöhtes Risiko für die Ablagerung von Schmutz und Mikroorganismen und folglich für Biofilmbildung stellen defekte, abgenutzte und brüchige Materialien wie korrodierte, verkalkte Metallrohre und auch bioverwertbare Stoffe dar, da sich dadurch ihre Oberflächen vergrößern und besonders in Rissen und Fugen geschützte Stellen entstehen (HOLAH und THORPE 1990, WIRTANEN et al. 1996, JONES et al. 1999, DE QUEIROZ und DAY 2007). Befinden sich auf einer Oberfläche biologisch inaktive Biofilme, sind diese ein ideales Substrat für die Bildung neuer Biofilme (BOWER und DAESCHEL 1999).

Eine Übersicht verschiedener Mikroorganismen, deren Eigenschaften und Beschaffenheiten und Auswirkungen auf verschiedene Oberflächenmaterialien gibt Tabelle 2.2.

Tabelle 2.2 Einfluss der Oberfläche auf das Anhaftungsverhalten verschiedener Mikroorganismen

Bakterien	Eigenschaften auf Oberflächen	Referenzen
Biofilme allgemein	Auf PVC ¹⁾ stärkere Anhaftung, als auf Glas oder verzinktem Eisen	ARMON et al. 1998
<i>Bacillus</i> -Sporen und <i>E. coli</i>	Anhaftung auf rostbeständigem Stahl im Vergleich zu Teflon und PEHD ²⁾ am geringsten	FAILLE et al. 2002
Marine <i>Pseudomonas</i> spp.	Gute Anhaftung an Oberflächen mit geringer, bzw. ohne Oberflächenladung, reduzierte Anhaftung an hydrophoben Flächen mit positiver Ladung, kaum Anhaftung an hydrophilen negativ geladenen Oberflächen	FLETCHER und LOEB 1979
<i>Salmonella</i> spp. Biofilme	Auf Kunststoff stärkste Anhaftung, gefolgt von Beton und rostbeständigem Stahl	JOSEPH et al. 2001
<i>L. monocytogenes</i>	Stärkere Anhaftung auf PVC als auf rostbeständigem Stahl	GANDHI und CHIKINDAS 2007
<i>L. monocytogenes</i> Biofilme	Auf zwei verschiedenen Typen rostbeständigen Stahls (R_a -Wert 0,035 +/- 0,004 μm bzw. 0,412 +/- 0,011 μm^3) kein signifikanter Unterschied in der Zahl der anhaftenden Bakterien	BARNES et al. 1999
<i>S. aureus</i> Biofilme	29 % geringere Anhaftung auf Stahl mit R_a -Wert von 0,035 +/- 0,004 μm als auf Stahl mit R_a -Wert von 0,412 +/- 0,011 μm^4	BARNES et al. 1999
<i>Bacillus steaerothermophilus</i>	Anhaftung von 10 bis 100 mal mehr vegetativen Zellen und Sporen auf verschmutzten Oberflächen (Art und physikalische Struktur des Schmutzes wichtig) als auf sauberen	FLINT et al. 2001

Bei Versuchen von BEECH et al. (1991) und DAVIES et al. (1993) wurde erkannt, dass durch Vorhandensein rostbeständigen Edelstahls in den jeweiligen Versuchsmedien die Produktion von EPS sowohl durch *Desulfovibrio desulfuricans*, als auch durch *Pseudomonas aeruginosa* angeregt wurde.

¹⁾ Polyvinylchlorid

²⁾ PEHD = polyethylene of high density

^{3), 4)} R_a -Wert gibt die Rauigkeit einer Oberfläche an; je höher der Wert, desto rauer die Oberfläche

Wichtig für Bildung und Entwicklung von Biofilmen sind auch die hydrodynamischen Verhältnisse der an eine Oberfläche angrenzenden flüssigen Phase (MITTELMAN 1998, VERRAN 2002). Dieser Einflussfaktor ist hauptsächlich bei der Verarbeitung von flüssigen Lebensmitteln relevant (Molkerei, Getränke, manche Eiprodukte etc.). In statischen Systemen können Biofilme ohne Einschränkungen wachsen (MIDELET und CARPENTIER 2004), hingegen wird deren Struktur in dynamischen Systemen je nach Eigenschaft der umgebenden Flüssigkeit verändert. Eine Übersicht der dazu vorliegenden Erkenntnisse aus der Literatur stellt Tabelle 2.3 dar.

Tabelle 2.3 Einflüsse hydrodynamischer Verhältnisse auf Biofilme

Hydrodynamische Verhältnisse	Beeinflussung des Biofilms	Referenzen
Flussgeschwindigkeitszunahme	Zunahme der Populationsdichte der Mikroorganismen, geschlossenere Oberfläche	HORN et al. 2002, LEON-OHL et al. 2004; RAMASAMY und ZHANG 2005
	Abnahme der Anhaftungskraft	DUDDRIDGE et al. 2004
Laminare Flussbedingungen	Ungleichmäßige abgerundete Struktur des Biofilms	DAVEY und O'TOOLE 2000
Turbulente Flussbedingungen	Ungleichmäßige gestreckte Strukturen	
	Verstärkte EPS-Produktion	LAZAROVA et al. 1994, RAMASAMY und ZHANG 2005

Verändern sich in einem System die Flussbedingungen, benötigen Biofilme je nach Dicke eine bis drei Wochen für deren Anpassung an neue Bedingungen (LEON-OHL et al. 2004).

2.1.3 Auswirkungen und Folgen von Biofilmen

Biofilme stellen kontinuierliche Kontaminationsquellen für Lebensmittel dar und können Pathogene sowie Verderbserreger umfassen und somit zu gesundheitlichen Gefahren für den Verbraucher und zur Verkürzung der Haltbarkeitsdauer führen (DUNSMORE et al. 1981, ANAND et al. 1989, FRANK und KOFFI 1990, KOUTZAYIOTIS 1992, RONNER und WONG 1993, ZOTTOLA 1994, FLINT et al. 1997, BARNES et al. 1999, ARNOLD und SILVERS 2000, JOSEPH et al. 2001, CHMIELEWSKI und FRANK 2003, TRACHOO 2003, DE QUEIROZ und DAY 2007). Die Übertragung von Mikroorganismen kann durch direkten Kontakt

eines Lebensmittels zu einem Biofilm auf einer Oberfläche oder indirekt über Vektoren erfolgen. Vektoren können Luft, Personal oder Reinigungssysteme sein, die Bakterien beispielsweise von Biofilmen an Wänden oder Böden auf Lebensmittel übertragen (GIBSON et al. 1999). Durch den Einsatz von Hochdruckreinigern besteht die Gefahr der Ablagerung abgelöster Biofilm-Mikroorganismen auf Lebensmittelkontaktflächen über Aerosole (KANG und FRANK 1990, ZOTTOLA und SASAHARA 1994). In Systemen, in denen flüssige Lebensmittel befördert werden, können sich durch Strömungsveränderungen Biofilmteile ablösen, im Prozessfluss verteilen (POULSEN 1999) und sich an anderen Stellen wieder anlagern und vermehren (MARSHALL 1992).

Aus ökonomischer Sicht ziehen Biofilme oft große Verluste nach sich (HOLAH und KEARNEY 1992, MATTILA-SANDHOLM und WIRTANEN 1992, MELO et al. 1992, CARPENTIER und CERF 1993). Sie können durch Aufnahme von Nährstoffen aus der Umwelt, die Produkte wie organische Säuren enthalten, oder durch Produktion solcher Stoffe durch die Biofilme selbst Korrosion herbeiführen (MATTILA-SANDHOLM und WIRTANEN 1992, GENIGEORGIS 1995). Laut FLEMMING (1994) entstehen ungefähr 20 % aller Korrosionsschäden auf Grund mikrobieller Einflüsse. Korrosion führt zur Vergrößerung der spezifischen Oberfläche und dient somit wiederum als ideale Grundlage für bakterielle Anhaftung und Biofilmbildung (ROMPRE et al. 2000).

Energie- und Produktverluste können Folgen von Biofilmen sein, die sich in Rohrleitungen ablagern und dadurch hydrodynamische Widerstände und verminderte Durchflussraten erzeugen (MATTILA-SANDHOLM und WIRTANEN 1992, FLEMMING 1994, KUMAR und ANAND 1998, TRACHOO 2003). An Wärmetauschern können sie den Wärmetransfer verhindern oder Einschränkungen hervorrufen (MELO et al. 1992, FLEMMING 1994, ZOTTOLA und SASAHARA 1994).

Ein wichtiger Aspekt von Biofilmen ist die gesteigerte Resistenz gegenüber antimikrobiellen Einflüssen (FRANK und KOFFI 1990, KRYSINSKI et al. 1992, MOSTELLER und BISHOP 1993, GREENBERG 2003, MEYER 2003, JOUENNE et al. 2004, MØRETRØ und LANGSRUD 2004). Bakterien in Biofilmen sind um ein Vielfaches unempfindlicher gegenüber Antibiotika als diejenigen in planktonartiger Lebensform. Diskutiert werden Resistenzsteigerungen um das 100 bis 1000 fache (COSTERTON et al. 1995, BOLES et al. 2004). Außerdem zeigen Bakterien in Biofilmen eine geringere Empfindlichkeit gegenüber extremen Temperaturen, Licht und Austrocknung (DEWANTI und WONG 1995).

Die Resistenz gegenüber antimikrobiellen Mitteln beruht auf einer Reihe von Faktoren:

- Verlangsamte Diffusion der Biozide durch den Biofilm (BROWN et al. 1988)
- Physiologische Veränderungen bei reduzierter Wachstumsrate (KUMAR und ANAND 1989)
- Produktion von Enzymen, welche antimikrobielle Substanzen abbauen können (KUMAR und ANAND 1998)
- Die EPS-Matrix stellt eine Barriere für eindringende Stoffe dar (BOYD und CHAKRABARTY 1995, GILBERT et al. 1997).

Die Durchlässigkeit des reifen Biofilms reicht laut ZHANG und BISHOP (1994) von 89 % in den äußeren Regionen bis zu 5 % in den tiefer gelegenen Schichten. Die tief im Film liegenden Zellen brauchen weniger Sauerstoff und Nährstoffe. In Nährstoffmangelsituationen zeigen einige Mikroorganismen veränderte Zellphysiologie und verringertes Wachstum (EVANS et al. 1991). In diesem reduzierten Stoffwechselzustand ist die Sensitivität gegenüber toxischen Substanzen herabgesetzt (BOWER und DAESCHEL 1999).

2.1.4 Prävention von Biofilmbildung

Die Vermeidung von Biofilmbildung trägt neben der Sicherung des Verbraucherschutzes entscheidend zur Senkung des Verbrauchs von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln bei und dadurch zur Kostensenkung bei der Herstellung sicherer Produkte (ZOTTOLA und SASAHARA 1994, ARNOLD und SILVERS 2000, GUNDUZ und TUNCEL 2006, N.N. 2008b). Zur Prävention von Biofilmbildung sind in der Literatur verschiedene Methoden beschrieben. Tabelle 2.4 stellt eine Übersicht dar.

Tabelle 2.4 Präventionsmaßnahmen gegen Biofilmbildung

Maßnahme	Referenzen
Erhöhung der Reinigungsfrequenz	GIBSON et al. 1999, FLINT et al. 1997
Gründliches Trocknen von Oberflächen	GENIGEORGIS 1995
Aufbringen bakterizider Substanzen auf geeignete Oberflächen; Silberspirale in Wasserschläuchen	EXNER 2005
Beschichtung von Oberflächen mit Silberkolloidionen	STREIT et al. 2004
Störung des Quorum sensing durch Furanon	RASMUSSEN et al. 2000, HENTZER et al. 2002

2.2 Reinigung und Desinfektion

Zur Entfernung von Biofilmen ist es von Vorteil, zwei oder mehrere Methoden gleichzeitig anzuwenden, um trotz möglicherweise vorhandener Resistenzen der Mikroorganismen ausreichende Reinigungs- und Desinfektionserfolge zu erzielen (MATTILA-SANDHOLM und WIRTANEN 1992). Reinigung und Desinfektion sind Schlüsselprozesse für die Herstellung sicherer Produkte in hoher Qualität und werden hauptsächlich von folgenden vier Faktoren bestimmt (SJÖBERG et al. 1995, GIBSON et al. 1999, KRÖMKER 2007):

- Auswahl der passenden Reinigungs- und Desinfektionsmittel
- Mechanische Reinigung
- Temperatur der Reinigungs- und Desinfektionslösungen sowie Umgebungstemperaturen
- Zeiten des Reinigungs- und Desinfektionsablaufs und Einwirkzeiten

Auf Grund der Nutzbarkeit von Lebensmittelproduktionsanlagen für möglichst 24 Stunden täglich sollten Reinigungsabläufe immer in kürzest möglicher Zeit durchgeführt werden (PARKAR et al. 2004) und - falls möglich - eine Kombination von mechanischer Energie und chemischen Wirkungsprinzipien angewandt werden (GIBSON et al. 1999).

2.2.1 Physikalische und biologische Reinigung

Der effektivste Weg zur Entfernung bereits anhaftender Mikroorganismen und Biofilme von Oberflächen ist laut GIBSON et al. (1999), MEYER (2003) sowie LINDSAY und VON HOLY (2006) die mechanische Reinigung, jedoch ist deren Einsatz auf Grund des Designs der zu reinigenden Oberflächen oft nur eingeschränkt möglich (DUNSMORE et al. 1981, MOSTELLER und BISHOP 1993). Mechanisches Reinigen kann durch manuelles oder automatisches Bürsten, durch Kratzen, durch Reinigung mit Wasser unter Druck oder durch Zirkulation von Flüssigkeit durch ein CIP-System erfolgen. Als weitere physikalische Methoden zur Entfernung von Biofilmen zählten KUMAR und ANAND (1998) das Anlegen von Magnetfeldern, elektrischen Feldern und Ultraschallbehandlung auf. Auch die Anwendung von heißem Wasser (CHMIELEWSKI und FRANK 2003), von Dampf (HAAS et al. 1998) oder heißer Luft (+ 116 bis + 150 °C) sowie der Einsatz von UV-Strahlung oder Ozon (KHADRE und YOUSEF 2001) wurden beschrieben. Höhere Temperaturen bei der Desinfektion können die Notwendigkeit des Einsatzes mechanischer Kraft vermindern (CHMIELEWSKI und FRANK 2003).

Auf Enzymen basierende Reinigungsmittel sind biologische Medien. Sie enthalten meist Proteasen zur Eiweißspaltung und Ablösung und/oder Polysaccharidasen wie z. B. α -Amylase zur Spaltung und Ablösung von Kohlenhydraten (PARKAR et al. 2004).

2.2.2 Chemische Reinigung und Desinfektion

Für die Produktion sicherer, haltbarer und gesundheitlich unbedenklicher Lebensmittel sind effektive Reinigung und Desinfektion wichtige Voraussetzungen (KLEINER 1998, EIDE et al. 2003). Für sachgerechte Reinigung und Desinfektion sollten betriebspezifische Hygienepläne unter Berücksichtigung aller, mit der Lebensmittelproduktion zusammenhängenden Einflüsse erstellt werden (TEUFEL 1984, KRATZHELLER et al. 2002). Der Reinigungsschritt, also das Entfernen jeglicher Lebensmittelreste und Schmutzpartikel, dient der Beseitigung potentieller Metaboliten für Mikroorganismen (GIBSON et al. 1999, THEVENOT et al. 2006). Visuell erfassbare Sauberkeit ist Ziel der Reinigung und die Grundvoraussetzung für eine effektive Desinfektion (EDELMEYER 1983). Unter Desinfektion versteht man alle Maßnahmen zur Verminderung der Keimzahl mit dem Ziel, die Übertragung bestimmter Mikroorganismen zu verhindern. Dies dient besonders zum Schutz vor Lebensmittelintoxikationen und -infektionen durch pathogene Mikroorganismen und der Hinauszögerung von Verderbsercheinungen an Lebensmitteln durch proteolytische, lipolytische und saccharolytische Aktivitäten von Mikroorganismen (WALLHÄUSER 1978, SCHMIDT und BEM 1978, EDELMEYER 1983, TEUFEL 1984, BEUTLING 1992, KLEINER 1998, N.N. 2004).

Verschiedene Autoren berichteten von unterschiedlichen Keimzahlreduktionen durch effektive Reinigung und Desinfektion. Eine Zusammenfassung stellt folgende Tabelle dar:

Tabelle 2.5 Berichtete Reduktionsraten von Oberflächenkeimzahlen pro cm²

Reduktion durch Reinigung (Angabe in lg bzw. %)	Reduktion durch Reinigung und Desinfektion (Angabe in lg)	Referenzen
0,91 lg und mehr	Keine Angabe	GIBSON et al. 1999
1 lg = 90 % (Grobreinigung) 3 lg = 99,9 % (Intensivreinigung)	5-8 lg	EDELMEYER 1983
5 lg	8 lg	SCHMIDT 1989
3-4 lg = 99,9-99,99 %	Keine Angabe	SCHMIDHOFER 1988
4 lg = 99,99 %	Weitere Reduktion	HOY 1996
Keine Angabe	5-8 lg	REUTER 1994

Das Verbleiben von Desinfektionsmittelrückständen auf Lebensmittelkontaktflächen muss vermieden werden, um Gefahren vom Lebensmittelkonsumenten abzuwenden (KNAUER-KRAETZL und REUTER 1992, SJÖBERG et al. 1995, EIDE et al. 2003).

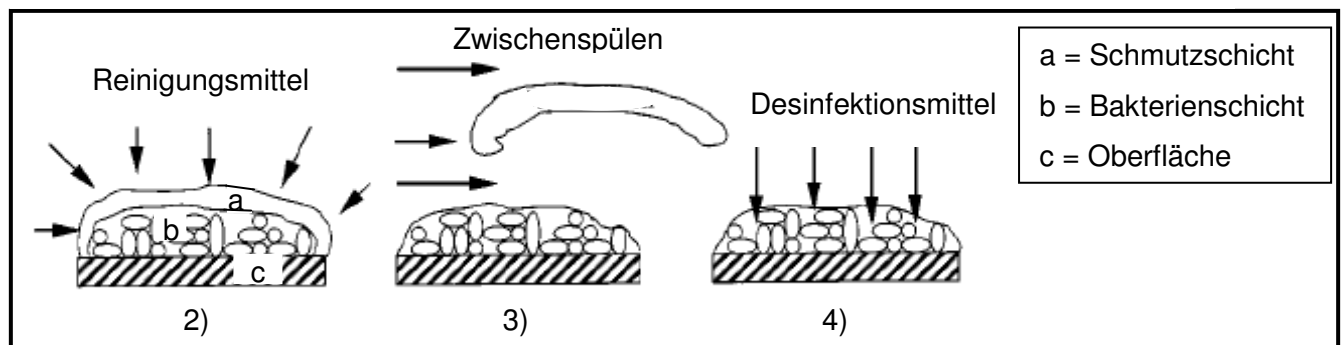
2.2.2.1 Reinigungs- und Desinfektionsablauf

Üblicherweise lassen sich Reinigungs- und Desinfektionsabläufe in fünf Schritte einteilen (siehe auch Abbildung 2.1):

- 1) Vorspülen mit klarem Wasser zum Entfernen locker gebundenen Schmutzes und grober Lebensmittelreste
- 2) Reinigung mit geeigneten alkalischen oder sauren Substanzen zur Lösung von Ablagerungen auf Oberflächen
- 3) Zwischenspülung mit klarem Wasser zum Abspülen der Reinigungschemikalien mit darin gelösten und aufgeschwemmten Verunreinigungen
- 4) Desinfektion mit geeigneten antimikrobiellen Substanzen
- 5) Nachspülen mit Leitungswasser zur Entfernung von Desinfektionsmittelresten und abgetöteten Mikroorganismen

(ZOTTOLA und SASAHARA 1994, HAVAS 1995, POULSEN 1999, FRYER et al. 2006).

Abbildung 2.1 Darstellung der Schritte 2) bis 4) eines Reinigungs- und Desinfektionsablaufs (modifiziert nach POULSEN 1999)



Stark verschmutzte Flächen empfahl HOY (1996) vor der Reinigung einzuweichen. Um bestmögliche Wirkungen zu erreichen, sollten Reinigungs- und Desinfektionsmittel zwingend nach Herstellerangaben verwendet werden (REUTER 1994). In Lebensmittel verarbeitenden Betrieben kommen hauptsächlich wässrige Reinigungs- und Desinfektionslösungen sowie entsprechende Substanzen in Schaum-, Nebel- oder Gelform zum Einsatz (SCHROEDER 1993, ZOTTOLA und SASAHARA 1994, SALUSTIANO et al. 2004, SREENIVASAN und CHORNY 2005). REUTER (1994) empfahl den Reinigungsschritt viermal mit alkalischem und beim fünften Mal mit saurem Reinigungsmittel durchzuführen, um mineralische Ablagerungen zu entfernen. Reinigungs- und Desinfektionspläne sollten von sachverständigen Hygienebeauftragten erstellt werden (REUTER 1994) und - sofern nicht automatisch durchgeführt - von kompetentem Personal vollzogen werden, um negative Auswirkungen auf die Lebensmittelproduktion zu vermeiden (TEUFEL 1984, GERSTEIN et al. 1993, KLEINER 1998).

SCHMIDT und BEM (1978) und HOY (1996) raten, zum Spülen 8 l Trinkwasser pro m² Oberfläche zu verwenden.

2.2.2.2 Cleaning in Place-Systeme

Unter „Cleaning in Place“ (CIP) versteht man die Reinigung von kompletten Anlagen oder Rohrleitungen ohne vorheriges Demontieren, Öffnen und ohne manuelle Mitwirkung. CIP-Anlagen sind in der Lebensmittelindustrie weit verbreitet und werden bevorzugt verwendet bei der Herstellung flüssiger Lebensmittel (DUNSMORE et al. 1981, DRESCH et al. 2001, VAN ASSELT et al. 2002, EIDE et al. 2003, BREMER et al. 2006). Der Reinigungsprozess umfasst das Besprühen von Oberflächen oder Zirkulation von Reinigungslösungen durch die Anlage unter Einsatz gesteigerter Turbulenzen und Durchflussgeschwindigkeiten (BREMER et al. 2006). Der Reinigungsablauf kann sowohl chemische als auch physikalische Komponenten sowie Kombinationen aus beiden beinhalten. Zur Reduktion von Wasserverbrauch und Abwasserbeseitigungskosten werden Reinigungslösungen teilweise mehrfach verwendet (reuse-Systeme), wobei aber eine Rekontamination ausgeschlossen werden muss (STEWART und SEIBERLING 1996, DRESCH et al. 1999, DRESCH et al. 2001, LELIEVRE et al. 2002). Das Hauptanliegen eines CIP-Systems ist das Sichern reproduzierbarer Reinigungs- und Desinfektionserfolge bei einem Minimum an Reinigungszeit, -aufwand und Kosten (VAN ASSELT et al. 2002, LIU und MACCHIETTO 2005).

2.2.2.3 Reinigung und Desinfektion beeinflussende Faktoren

Grundsätzlich können Reinigungs- und Desinfektionsmittel nur dort korrekt wirken, wo sie in ausreichendem Maße in passender Konzentration und für genügend lange Zeit hingelangen (EDELMEYER 1983). Dabei ist die Bauart der zu reinigenden Anlage von entscheidender Bedeutung, da Maschinen je nach Konstruktion (offen oder geschlossen) verschiedener Reinigungsarten bedürfen (REUTER 1994). Für offene Systeme wurden speziell Niederdrucksysteme entwickelt (LAUFENBERG 1990). Geschlossene Systeme werden vorzugsweise durch Hochdrucksysteme gereinigt. Zu beachten ist bei Reinigungsvorgängen, dass Aerosolbildung, Spritzwasser und Schwadenbildung vor allem bei Reinigung mit heißem Wasser oder bei Reinigung mit hohem Druck vermieden werden sollten, da diese verfahrensbedingten Nachteile zur Rekontamination schon gereinigter Flächen führen können (SCHMIDT und BEM 1978, EDELMEYER 1983, GERSTEIN et al. 1993, SCHROEDER 1983, EIDE et al. 2003).

Starke Auswirkungen auf Reinigungs- und Desinfektionsergebnisse haben die Umgebungstemperatur und die Temperatur der Reinigungs- und Desinfektionslösungen. Laut EDEL-

MEYER (1983), LAUFENBERG (1990) und REUTER (1994) ist in warmer Umgebung effektivere Reinigung und Desinfektion gewährleistet als in kalter. Die Phase des Schmutzaufquellens ist dabei weniger von der Temperatur abhängig als der Rest des Reinigungs- und Desinfektionsablaufs (GILLHAM et al. 1999, FRYER et al. 2006). Eine Reihe von Einflüssen durch verschiedene Temperaturen ist in Tabelle 2.6 zusammengestellt.

Tabelle 2.6 Temperatur und deren Auswirkungen auf Reinigung und Desinfektion

Temperatureinfluss	Auswirkung	Referenzen
Heiße Reinigungsmittel	Anstieg der Reinigungsrate und Absinken der benötigten physikalischen Kräfte	REINEMANN 1993, BIRD und BARTLETT 1995, CHMIELEWSKI und FRANK 2003, FRYER et al. 2006
	Gefahr der Denaturierung von Proteinablagerungen an Oberflächen	EDELMEYER 1983, SCHMIDT 1984, GERSTEIN et al. 1993, CHMIELEWSKI und FRANK 2003
Kalte Reinigungsmittel	Gefahr von Verschmutzungsresten	KLEINER 1998
	Schlechte Fettentfernung, Gefahr der Wiederablagerungen	GIESE 1991, GERSTEIN et al. 1993

Auch der pH-Wert des Milieus, in dem eine Reinigung und Desinfektion durchgeführt wird, muss bei der Auswahl der Agenzien beachtet werden, da saure Mittel in alkalischer und alkalische Agenzien in saurem Milieu auf Grund von Pufferung und Neutralisation nur schlecht wirksam sind (HOY 1996).

Wichtig bei der Auswahl von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln ist ebenso die Beachtung des Zwecks zu dem ein Produkt verwendet werden soll (PARKAR et al. 2004). Laut STOLLE (1980) wirken Reinigungs- und Desinfektionsagenzien nur optimal bei Verwendung in den oberen Bereichen der vom Hersteller angegebenen Konzentrationen. Unterdosierungen können zu schlechten Ergebnissen führen (TEUFEL 1984) und im Bereich der Desinfektionsmittel statt zur Abtötung von Mikroorganismen nur eine Wachstumshemmung bewirken (EDELMEYER 1983). Durch die Verwendung der optimalen Konzentrationen kann die Einwirkzeit von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln auf ein Minimum beschränkt werden (GALLOT-LAVALLEE et al. 1984, PLETT 1985). Bei der Bestimmung der Einwirkzeit eines Reinigungsmittels ist auch der Grad der Verschmutzung zu berücksichtigen, da bei stärkeren Verschmutzungen höhere Einwirkzeiten gewählt werden müssen (FRYER et al. 2006). Ebenfalls vom Ausmaß der Verschmutzung abhängig sind die Reinigungsintervalle zwischen zwei aufeinander folgenden Reinigungsgängen. Sie müssen an die zu reinigenden Teile ange-

passt werden, weshalb – je nach Situation – mehrmals täglich bis einmal nach Produktionssende gereinigt werden sollte (TEUFEL 1984, REUTER 1994, GENIGEORGIS 1995). Schmutz- und Produktrückstände schützen Mikroorganismen vor Desinfektionsmitteln (KLEINER 1990, ZOTTOLA und SASAHARA 1994, HOY 1996, GIBSON et al. 1999, CHMIELEWSKI und FRANK 2003). Reagieren Desinfektionsmittel mit Proteinen aus Lebensmittelresten, kommt es zu einem Aktivitätsverlust der Desinfektionsmittel. Folglich stehen sie nicht mehr für die Abtötung der Mikroorganismen zur Verfügung („Eiweißfehler“). Beim Verbleib von Reinigungsmitteln auf einer zu desinfizierenden Oberfläche können Desinfektionsmittel statt mit Mikroorganismen mit Restreinigungschemikalien reagieren. Dies wird in der Fachliteratur als „Seifenfehler“ bezeichnet (KIM und FRANK 1995, HOY 1996, CHMIELEWSKI und FRANK 2003). Beim Verbleiben von Restfeuchte auf gereinigten und desinfizierten Oberflächen besteht die Gefahr, dass sich verstärkt bestimmte Mikroorganismen etablieren, die als Folge produzierte Lebensmittel kontaminieren können (SCHMIDT und BEM 1978, EDELMEYER 1983, TEUFEL 1984). Dieses Problem kann ebenfalls eintreten, wenn unhygienische Gegenstände bei Reinigung und Desinfektion verwendet werden (TEUFEL 1984). Besonders problematisch erwiesen sich in diesem Zusammenhang>Listerien, die sich als typische Nischenbildner in für die Reinigung und Desinfektion unzugänglichen Spalten und Rissen von Oberflächen vermehren (TOMPKIN 2002, SCHALCH 2006). Je glatter ein Material ist, desto leichter ist es zu reinigen (HOY 1996), denn aus Rissen oder Fugen sind Mikroorganismen schwerer zu entfernen als von unbeschädigten und durchgehenden Flächen (EDELMEYER 1983, HOLAH und THORPE 1990, KIRCHER und REUTER 1996, N.N. 2004). Deshalb sollten Oberflächenmaterialien eine möglichst niedrige Verschmutzungskinetik aufweisen. Edelstahl ist im Lebensmittelbereich weit verbreitet, da er leicht zu reinigen und gut korrosionsbeständig ist (BOULANGE-PETERMANN et al. 2004). Glas, Nylon und Polyvinylverbindungen halten Produktion, Reinigung und Desinfektion weniger lange stand als Edelstahl (DUNSMORE et al. 1981, LE CLERQ-PERLAT und LALANDE 1994).

Auch die Reaktion verschiedener Mikroorganismen, deren Species, Anzahl und Zustand auf unterschiedliche Reinigungs- und Desinfektionsmittel variiert teilweise stark. Eine Übersicht verschiedener Mikroorganismen und deren Reaktionen auf Reinigungs- und Desinfektionsmittel bietet Tabelle 2.7:

Tabelle 2.7 Beispiele der Beeinflussung verschiedener Mikroorganismen durch Reinigung und Desinfektion

Mikroorganismen, Art der Beeinflussung	Referenzen
Gramnegative resistenter gegenüber Desinfektionsmitteln als grampositive Bakterien	NIKAIDO und VARRA 1985, SIKKEMA et al. 1995
<i>E. coli</i> resistenter gegenüber Quaternären Ammoniumverbindungen als Listerien	HOLAH et al. 2002
Anspruchslose Mikroorganismen können Reinigung und Desinfektion besser überstehen, wenn geringste Nährstoffreste und Restfeuchte vorhanden sind als anspruchsvolle	EDELMEYER 1983
<i>B. subtilis</i> wegen Sporenbildung resistenter gegenüber verschiedenen Agenzien als <i>P. fluorescens</i>	LINDSAY et al. 2002
<i>P. fluorescens</i> gegenüber Chlordioxyd weniger empfindlich in Anwesenheit von <i>B. cereus</i> , als <i>P. fluorescens</i> als Einzelspecies	STORGARDS et al. 1999
Biofilme resistenter gegenüber Desinfektionsmitteln als planktonartig lebende Mikroorganismen	ZOTTOLA und SASAHARA 1994, EGINTON et al. 1998, CHMIELEWSKI und FRANK 2003
Lange anhaftende Biofilme schwieriger zu entfernen als neu gebildete	STORGARDS et al. 1999
Resistenz von Bakterien in Biofilmen aus verschiedenen Species höher als in Biofilmen aus einzelnen Species	LERICHE und CARPENTIER 1995, LINDSAY et al. 2002

Auch ökonomische Faktoren haben Einfluss auf die Anwendung von Reinigungs- und Desinfektionsmitteln. Personalkosten, Energiekosten, Reinigungs- und Desinfektionsmittelkosten sowie Wasser- und Abwasserkosten müssen bei der Auswahl von Reinigungssystemen berücksichtigt werden (KLEINER 1998, FRYER et al. 2006). Besonders Heißwasseranwendungen ziehen laut EDELMEYER (1983) hohe Energiekosten nach sich. Chlorreiniger und Peroxyde werden wegen ihrer vergleichsweise geringen Kosten im Lebensmittelbereich häufig verwendet (DE QUEIROZ und DAY 2007).

2.2.2.4 Reinigungs- und Desinfektionsmittel in der Lebensmittelhygiene

2.2.2.4.1 Reinigungsmittel

Sie können grob in alkalische, neutrale und saure Chemikalien eingeteilt werden. Diesen Grundstoffen werden meist folgende weitere Chemikalien zur Wirkungsverstärkung zugesetzt:

- Tenside (gutes Emulgiervermögen von Fett und Erleichterung des Eindringens des Reinigers in enge Spalten und in Schmutzschichten auf Grund des amphiphilen Aufbaus, Senkung der Oberflächenspannung)
- Komplexbildner (Verhinderung der Ausfällung von Härtebildnern des Wassers wie Ca^{2+} - und Mg^{2+} -Salze und Bindung von Schwermetallionen)
- Suspensionsstabilisatoren (z. B. Neutralsalze)
- Schauminhibitoren
- Korrosionsschutzstoffe (z. B. hochmolekulare Alkohole und Aldehyde)

(SCHMIDT und LEISTNER 1981, EDELMEYER 1983, CHMIELEWSKI und FRANK 2003, BREMER et al. 2006, WILDBRETT 2006).

Alkalische Reinigungsmittel sind im Lebensmittelbereich die am häufigsten eingesetzten Agenzien. Das gebräuchlichste Mittel ist Natronlauge. Alkalien lassen Proteine aufquellen und verbessern somit deren Löslichkeit, wie auch die von Kohlenhydraten. Ohne Zusatz von Tensiden weisen sie schlechtes Emulgiervermögen gegenüber Fett auf. Je höher der pH-Wert von alkalischen Reinigern liegt, desto effektiver ist deren Wirkung auch bezüglich der Fettlösekraft. Jedoch erhöht sich damit auch die Korrosionsgefahr an Oberflächen gereinigter Gegenstände (MAYER 2004, BREMER et al. 2006, WILDBRETT 2006). **Neutrale Reiniger** weisen pH-Werte zwischen 6,5 und 7,5 auf (REUTER 1994) und werden hauptsächlich zur manuellen Reinigung eingesetzt. Tenside sind meist die Hauptbestandteile dieser Reiniger (EDELMEYER 1983). Auf Grund des neutralen pH-Werts wirken sie nur wenig korrosiv (BÖHM 2002). **Saure Reinigungsmittel** sind Agenzien, deren Hauptbestandteil anorganische oder organische Säuren darstellen, denen teils andere Chemikalien wie Tenside zur Verbesserung der Reinigungswirkung zugefügt sind. Durch Säuren werden auf Oberflächen abgelagerte Salze wie Wasser-, Milch- oder Bierstein in einen löslichen Zustand versetzt. Je niedriger der pH-Wert der eingesetzten Mittel ist, desto höher die Korrosionsgefahr. Gegen diesen Effekt werden Korrosionsinhibitoren eingesetzt (SCHMIDT und LEISTNER 1981, EDELMEYER 1983, MARRIOTT 1992, BÖHM 2002, BREMER et al. 2006, WILDBRETT 2006).

2.2.2.4.2 Desinfektionsmittel

Um eine effektive Desinfektion zu gewährleisten, ist die Verwendung passender Agenzien sehr wichtig. Die Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG) empfiehlt für den Lebensmittelbereich geprüfte Desinfektionsmittel⁵⁾. Nach eigenen Prüfkriterien wurden die darin enthaltenen Mittel geprüft auf

- Wirksamkeit
- Anwendbarkeit (Materialverträglichkeit)
- Umweltverträglichkeit (biologische Abbaubarkeit)

(TEUFEL 1984, KNAUER-KRAETZL und REUTER 1992, KNAUER-KRAETZL et al. 1993, REUTER 1994, DVG 2003, ROCKHOFF 2006, DVG 2007).

Die Anforderungen, die in der Praxis an Desinfektionsmittel gestellt werden, sind noch höher:

- schnelle Wirksamkeit
- breites Wirkungsspektrum
- mikrobizide Wirkung (nicht nur mikrobiostatisch)
- geringer Wirkungsverlust durch Eiweiße und Reinigungsmittelrückstände
- keine korrosive Wirkung
- Hautverträglichkeit und Atoxizität
- Geruchsneutralität
- Wirkungsbereich in hohen Verdünnungen

(THIEL 1980, REUTER 1986, BERDING 1991 und ERNST 2003)

Tabelle 2.8 fasst die Wirkungsspektren der wichtigsten Desinfektionsmittelgruppen zusammen:

5) 6. Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) für den Lebensmittelbereich (Gießen, Juli 2003) veröffentlicht im Deutschen Tierärzteblatt 07/2003

Tabelle 2.8 Wirkungsspektren der wichtigsten Desinfektionsmittelgruppen (modifiziert nach STELLMACHER et al. 1974, PFANNEBERG und ZRENNER 1993, WALLHÄUSSER 1995, BÖHM 2002, MROZEK 2006)

	Grampositive Bakterien	Gramnegative Bakterien	Mycobakterien	Bakterielle Sporen	Viren	Hefen	Schimmelpilze
Aldehyde							
Alkohole							
Chlor, Jod							
Peroxide							
Laugen							
Säuren							
Phenole							
Quats ⁶⁾							
Amphotenside							

 gut wirksam

 unwirksam

 mäßig wirksam

 keine Angaben

Die wichtigsten Vertreter der Gruppe der **Aldehyde** sind Formaldehyd, Glutaraldehyd und Glyoxal. Die Wirkungsweise ist an die sehr reaktive Aldehydgruppe gebunden, die vor allem mit Amino- und Amidgruppen von Zellproteinen reagiert. Durch Ausbildung von N-Methylol-Verbindungen und anschließender Bildung von irreversiblen Methylbrücken werden Bestandteile mikrobieller Zellwände geschädigt. Dadurch werden diese durchlässig und das osmotische Gleichgewicht im Inneren der Zellen gestört. Außerdem werden Zellenzyme inhibiert und dadurch der Zellstoffwechsel behindert.

Aldehyde weisen deutliche Eiweiß- und Kältefehler auf. Bei Temperaturen unter + 10 °C ist die Wirkung der Aldehyde stark beeinträchtigt, um 0 °C kommt sie zum Erliegen. Ihr Wirkungsspektrum ist breit. Kontakt mit Aldehyden kann zu Haut-, Schleimhaut, Atem- und Verdauungstraktreizungen führen. Auch kanzerogene und mutagene Wirkungen werden disku-

⁶⁾ Quats = Quaternäre Ammoniumverbindungen

tiert. (PFANNEBERG und ZRENNER 1993, WALLHÄUSSER 1995, MAYER 2004, BÖHM 2002).

In der Gruppe der **Alkohole** werden Ethanol, Propanol und Isopropanol am häufigsten verwendet. Bei Alkoholen steigt die mikrobizide Wirkung mit dem Molekulargewicht und der Kettenlänge an. Die Wirkungsweise beruht vor allem auf der Denaturierung von Proteinen. Sie finden in Konzentrationen zwischen 50 und 80 % Verwendung. Absoluter Alkohol wirkt nicht bakterizid. Erst ein gewisser Wassergehalt ermöglicht die Keimabtötung, Konzentrationen unter 30 % jedoch sind unwirksam. Sie werden vor allem zur Hände- und Flächendesinfektion eingesetzt. (PFANNEBERG und ZRENNER 1993, WALLHÄUSSER 1995, BÖHM 2002, HOLAH et al. 2002).

Zur Gruppe der **Halogene** gehören sowohl Chlor und Chlorabspalter als auch Jodophore. Als Desinfektionsmittel im Einsatz sind elementares Chlor und zahlreiche organische und anorganische Chlorverbindungen. In wässriger Lösung bilden sie unterchlorige Säure, die die Zellwand von Mikroorganismen durchdringt und im Zellinneren ihre Wirkung als starkes Oxidationsmittel entfaltet. Sie setzt atomaren Sauerstoff frei, der Zellkomponenten wie Proteine und Nukleinsäuren oxidiert. Außerdem reagiert Chlor mit SH-Gruppen von Enzymen. Die Menge an verfügbarem Chlor, die nicht mit anderen organischen Substanzen reagiert (Chlorzehrung), ist entscheidend für die bakteriozide Wirkung. Im schwach sauren pH-Bereich wirkt die Chlordesinfektion erheblich schneller als im alkalischen. Mit Zunahme der Temperatur steigt auch die Wirksamkeit von Chlor an. (PFANNEBERG und ZRENNER 1993, WALLHÄUSSER 1995, BÖHM 2002). Chlorreiniger werden häufig wegen ihrer Zuverlässigkeit bei niedrigen Kosten verwendet (DE QUEIROZ und DAY 2007).

Der wirksame Bestandteil jodhaltiger Desinfektionsmittel ist freies Jod. Jodophore sind generell sauer eingestellt (Wirkungsoptimum bei pH 2,5 - 4), da unter pH 7 die Wirksamkeit stetig zunimmt. Die Wirkungsweise von Jod-Desinfektionsmitteln beruht auf deren starker Oxidationskraft, wodurch mikrobielle Proteine denaturiert werden. Bei niedrigen Konzentrationen tritt starker Wirkungsverlust durch vorhandenes organisches Material auf. Jodhaltige Desinfektionsmittel müssen bei Temperaturen unter + 40 °C angewandt werden, da Jod bei höheren Temperaturen verdampft und die Korrosionsgefahr mit der Temperatur ansteigt. Die Toxizität von Jodophoren ist gering, es werden jedoch häufig allergische Reaktionen berichtet (PFANNEBERG und ZRENNER 1993, WALLHÄUSSER 1995, BÖHM 2002).

Wasserstoffperoxid und Peressigsäure stellen die wichtigsten Vertreter der **Sauerstoffabspalter** dar. Beides sind starke Oxidationsmittel, die auf Zellproteine und Nukleinsäuren von Mikroorganismen wirken. Die Toxizität der Peressigsäure ist gering, krebserregende Wirkungen werden aber vermutet.

Zum Einsatz kommt Peressigsäure häufig zur Flächendesinfektion in Konzentrationen zwischen 0,1 und 1 %. Sie ist auch geeignet zur Aerosoldesinfektion.

Wasserstoffperoxid zeigt die stärkste Wirkung bei einem optimalen pH-Wert im sauren Bereich. Die Korrosionsgefahr stellt bei diesen Substanzen ein Problem dar (PFANNEBERG und ZRENNER 1993, REUTER 1994, BÖHM 2002, SALUSTIANO et al. 2004).

pH-Werte über 10 und unter 4 führen zu einer direkten Schädigung bzw. Abtötung von Mikroorganismen. Deshalb sind viele **Säuren** und **Laugen** antimikrobiell wirksam (MROZEK 2006). Als alkalische Desinfektionsmittel werden hauptsächlich Natronlauge, seltener auch Kalilauge eingesetzt. Einprozentige Natronlauge hat einen pH-Wert von 13 und wird häufig in der Molkerei- und Getränkeindustrie eingesetzt. Durch den hohen pH-Wert werden Phosphorsäureester der Zellwandlipide verseift und die Säureamidbindungen der Peptide hydrolysiert. Dies führt zur Eiweißdenaturierung. Der Effekt nimmt mit steigender Temperatur zu. Nachteilig sind die stark korrosiven Eigenschaften der Alkalien (WALLHÄUSSER 1995, BÖHM 2002, MROZEK 2006).

Daneben werden zu Desinfektionszwecken organische Säuren wie Ameisen-, Essig-, Milch- und Propionsäure herangezogen. Durch die Verschiebung des pH-Werts wird das intrazelluläre osmotische Gleichgewicht aufgehoben und damit die Mikroorganismenzelle abgetötet. Durch hohe Eiweißbelastung sinkt die Wirksamkeit von Säuren (Eiweißfehler). Dies kann beispielsweise durch Verlängerung der Einwirkzeit oder durch Erhöhung der Konzentration kompensiert werden. Für eine zuverlässige Wirksamkeit müssen die Säuren in relativ hohen Konzentrationen verwendet werden. (MARRIOTT 1992, REUTER 1994, BÖHM 2002, CHMIELEWSKI und FRANK 2003, MROZEK 2006).

Die rasche Wirkung von **Phenolen** beruht auf deren Membranaktivität. Im Inneren der Zellen reagieren sie mit Proteinen, was zur irreversiblen Enzymschädigung führt. Nachteilig bei Phenolen sind deren ätzende und korrosive Wirkung sowie die schlechte Wasserlöslichkeit, was aber durch Kombination mit Tensiden verbessert wird. Im Lebensmittelbereich werden Phenole selten verwendet. (WALLHÄUSSER 1978, PFANNEBERG und ZRENNER 1993, REUTER 1994, BÖHM 2002).

Quaternäre Ammoniumverbindungen (Quats) sind kationische Tenside und werden häufig als Kombinationspräparate vorwiegend im Lebensmittelbereich eingesetzt. Quats beeinträchtigen die Funktion der mikrobiellen Zellmembranen, was zu einer Störung des Zellmilieus und zur Denaturierung von Proteinen führt. Sowohl organische Substanzen als auch Anwesenheit von Seifen (Seifenfehler) beschränken die Effektivität der Quats. Saure pH-Werte bedingen schlechtere Wirkungen als alkalische. Bei pH-Werten unter 3 fehlt die Desinfektionswirkung ganz. Bei Temperaturanstieg erhöht sich die Wirksamkeit. Diese Desinfektionsmittel sind nur wenig toxisch. Es muss aber beachtet werden, dass sie einen hohen Eiweißfehler aufweisen. Auch hartes Wasser führt zu Reduzierung der Desinfektionswirkung (PFANNEBERG und ZRENNER 1993, WALLHÄUSSER 1995, BÖHM 2002, HOLAH et al.

2002, CHMIELEWSKI und FRANK 2003, PARKAR et al. 2003, MAYER 2004, SALUSTIANO et al. 2004).

Amphotenside sind hochmolekulare Aminosäuren und zeigen ähnliche Wirkungsweisen wie quaternäre Ammoniumverbindungen. Sie weisen einen mäßigen Eiweiß-, aber einen deutlichen Kältefehler auf. Diese Mängel können jedoch durch Verlängerung der Anwendungszeit teilweise kompensiert werden (REUTER 1994, WALLHÄUSSER 1995, BÖHM 2002).

2.2.2.5 Auswirkungen von Reinigung und Desinfektion auf die Umwelt

Frequentes Reinigen und Desinfizieren hat starke Auswirkungen auf die Umwelt. Inhaltsstoffe in Reinigungs- und Desinfektionsmitteln wie Phosphate in Reinigungsmitteln zur Reduzierung der Wasserhärte und Stickstoffverbindungen stellen ein hohes ökologisches Risiko dar, da sie zu Eutrophierung von Oberflächengewässern führen können (EIDE et al. 2003, MAYER 2004, FRYER et al. 2006). Auch hohe Milch- und andere Produktreste aus Lebensmittelbetrieben im Reinigungswasser zählen zu den Hauptverursachern der Eutrophierung.

Tabelle 2.9 Durchschnittlicher Anfall von Stickstoff und Phosphor aus Milchresten bei der Spülphase während eines CIP-Reinigungsdurchlaufs in Molkereien (EIDE 1997, modifiziert nach EIDE et al. 2003)

Substanz	Anfallende Menge pro Reinigungsdurchlauf in g
Stickstoff	118,5
Phosphor	23,0

Durch effektive Abwasserbehandlung konnten bis zu 90 % der Phosphor und Stickstoffverbindungen aus den Abwässern entfernt und somit der Eutrophierung von Gewässern entgegengewirkt werden (EIDE et al. 2003). Eine weitere Umweltbelastung stellen giftige Stoffe in Abwässern dar, durch die Wasserlebewesen vergiftet werden. Verschiedene Stoffe sind in der Lage Schwermetalle an sich zu binden und können dadurch in die Umwelt gelangen (MAYER 2004).

Nach einer Wiederaufbereitung ist die Wiederverwendung von Reinigungsmitteln möglich, um die Umwelt weniger zu belasten (FRYER et al. 2006). Laut Studien von EIDE et al. (2003) konnten durch effektive Filtermethoden rund 30 % an Reinigungsmitteln und 10 % an Wasser zurück gewonnen werden. Dabei war eine Energieeinsparung von 16 % - im Vergleich zu Systemen, bei denen keine Wiederaufbereitung stattfand - zu verzeichnen.

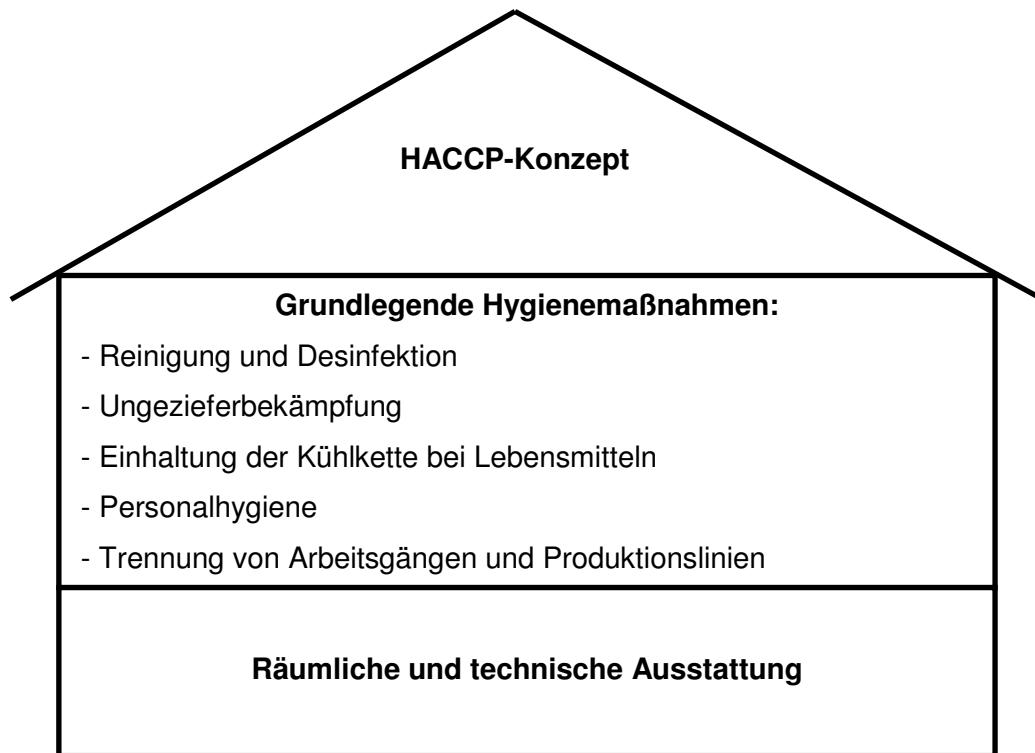
2.2.3 Rechtlicher Rahmen für Reinigung und Desinfektion

Die Hauptverantwortung für die Lebensmittelsicherheit wird gemäß VERORDNUNG (EG) 852/2004 Artikel 1, Abs. 1, Satz a dem Lebensmittelunternehmer zugeschrieben. Größte Bedeutung wird dabei gemäß HACCP-Konzept (Hazard Analysis and Critical Control Point-Konzept) der guten Hygiene- und Herstellungspraxis sowie den Eigenkontrollmaßnahmen beigemessen (RAVELHOFER-ROTHENEDER 2004, RAVELHOFER-ROTHENEDER und ROTHENEDER 2005, STOLLE et al. 2005, SPERNER und STOLLE 2007a).

Das HACCP-Konzept beinhaltet die kontinuierliche Identifizierung und Bewertung von Gefahren, die durch ein bestimmtes Lebensmittel den Verbraucher bedrohen können (HECHELMANN 1995, UNTERMANN und DURA 1996, HILDEBRANDT 2004, N.N.2008e). UNTERMANN (2001) stellte im so genannten „Zürcher Hygienehaus“ (Abbildung 2.2) auf sehr anschauliche Art die Komponenten eines jeden leistungsfähigen Lebensmittelsicherheits- bzw. Hygienekonzepts dar. Das „Fundament“ bildeten die räumlichen und technischen Voraussetzungen der Betriebsstätte. Die tragenden „Wände“ stellten die grundlegenden Hygienemaßnahmen wie zum Beispiel Reinigung und Desinfektion dar (UNTERMANN und DURA 1996, UNTERMANN 2001, HILDEBRANDT 2004, ZECHEL et al. 2006).

Allerdings werden Reinigung und Desinfektion im Lebensmittelbereich in VERORDNUNG (EG) 852/2004 in einer zwar angemessenen, aber nicht definitiven Vorgehensweise und Frequenz gefordert. Es muss jedoch sichergestellt sein, dass kein Kontaminationsrisiko für Lebensmittel besteht.

Abbildung 2.2 Zürcher Hygienehaus (UNTERMANN und DURA 1996, UNTERMANN 2001; modifiziert nach BOTZENHARDT 2004)



Zur Sicherung der guten Hygiene- und Herstellungspraxis legt die VERORDNUNG (EG) 852/2004 die Erstellung von Leitlinien nahe. Diese werden in der Regel von den Verbänden der Wirtschaftsbeteiligten in Kooperation mit der Lebensmittelüberwachung, der Wissenschaft, den Verbänden und Institutionen wie zum Beispiel dem Deutschen Institut für Normung e. V. (DIN) erarbeitet und umgesetzt (STÄHLE 1999, KLEINER und WELLHÄUSER 2000, KULOW 2007).

2.2.4 Überprüfung des Reinigungs- und Desinfektionserfolges

Vor Inkrafttreten des EU-Hygienepakets waren Lebensmittelunternehmer durch ENTSCHEIDUNG 2001/471/EG verpflichtet, zu gewährleisten, dass die Produktionsbedingungen den Anforderungen an die Hygienenormen entsprachen. Die Überprüfung des Reinigungs- und Desinfektionserfolges sollte mittels Tupfer- oder Abklatschtechnik erfolgen (ELLERBROEK 2002, BUCHER und STOLLE 2003, SCHALCH 2004). Durch die neuen EU-Verordnungen wurde diese Entscheidung zwar außer Kraft gesetzt, wird aber auf Grund fehlender neuer Vorschriften nach wie vor in der Praxis angewandt.

2.2.4.1 Überprüfung der Erreichbarkeit von Oberflächen durch Reinigung und Desinfektion

Bei Reinigung und Desinfektion muss die Erreichbarkeit der jeweiligen Oberflächen durch die entsprechenden Agenzien gewährleistet sein. Dies lässt sich realisieren, indem kontaminierte Oberflächen gereinigt und anschließend dahingehend visuell geprüft werden, ob Restverschmutzungen vorhanden sind. Laut HEGNAUER (2007) wurden in Praxistests Oberflächen von Anlagen, die durch CIP-Systeme gereinigt werden, mit Ketchup oder Joghurt bestrichen, um anschließend die Erreichbarkeit der kontaminierten Stellen durch die Reinigungsagencien zu prüfen.

Im MERKBLATT RIBOFLAVINTEST FÜR KEIMARME ODER STERILE VERFAHRENS-TECHNIKEN (2007) des Verbands deutscher Maschinen- und Anlagenbauer e. V. (VDMA) wird die Überprüfung der Erreichbarkeit durch Einsatz von wässriger Riboflavinlösung mit Zusatz von Hydroxyethylcellulose vorgeschlagen. Die Lösung soll laut Angaben mittels Sprühflasche auf die zu überprüfenden Oberflächen verbracht werden. Nach dem Ablauf eines Spülgangs wird überprüft, an welchen Stellen die unter UV-Licht fluoreszierende Lösung nicht entfernt und somit die Erreichbarkeit durch das Reinigungssystem nicht gewährleistet wurde. Hydroxyethylcellulose dient dabei laut HEGNAUER (2007) der Erhöhung der Viskosität und zur verlängerten Feuchthaltung der aufgesprühten Lösung. ANTONIOU und CARTER (2006) verwendeten eine Riboflavinlösung unter Zusatz von Ethanol, was laut HEGNAUER (2007) zur leichteren Lösung des Riboflavins in Wasser dient. Der Erreichbarkeitstest galt als bestanden, wenn weder unter normalem Tageslicht, noch unter UV-Licht Riboflavinfluoreszenz erkennbar war (ANTONIOU und CARTER 2006, MERKBLATT RIBOFLAVINTEST 2007).

Nach Angaben von HEGNAUER (2007) kann anstelle des Riboflavins auch Uranin zum Einsatz kommen, was jedoch eine schlechtere Lösbarkeit von Oberflächen aufwies. Da feste Haftung aber nicht das Ziel des Tests war, wurde die Riboflavinlösung vorgezogen.

ANTONIOU und CARTER (2006) beurteilten den Riboflavintest als sehr sensitives Verfahren und führten als Vorteile die Kostengünstigkeit und die gesundheitliche Ungefährlichkeit an.

2.2.4.2 Methoden zur Überprüfung des Reinigungs- und Desinfektionserfolgs

Meist werden zu diesem Zweck sogenannte direkte oder indirekte mikrobiologische Verfahren angewandt. Zu den indirekten Verfahren gehört der **NAD-Test**, der sowohl organische Produktrückstände auf Oberflächen detektiert, als auch Mikroorganismen über das Coenzym Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (-Phosphat), also NAD, NADP, HADPH und NADH (GIERSE und BABEL 2002, GOLL et al. 2004). Vorhandenes Substrat wird mittels einer enzymati-

schen Reaktion als Farbumschlag von gelb nach violett farblich dargestellt. Die NADPH/NADP-Rate kann hoch und gleichzeitig NADH/NAD niedrig sein, die Gesamtmenge an Nucleotiden bleibt aber immer relativ konstant (SINGH et al. 1994).

GIERSE und BABEL (2002) empfahlen den Test zur Durchführung betriebseigener Kontrollen als sichtbarer Beleg der Hygienebeurteilung. WEBER et al. (1997) erkannten in diesem Test keine zuverlässige Aussage bezüglich der Kontrolle von Reinigung und Desinfektion, TRAUTSCH (2003) und GOLL et al. (2004) beurteilten ihn als sinnvolle Ergänzung, jedoch nicht als Ersatz für mikrobiologische Untersuchungen. Im Vergleich mit dem Nährbodenabklatschverfahren fand TRAUTSCH (2003) eine befriedigende Übereinstimmung der Ergebnisse.

Das **Biolumineszenzverfahren** beruht auf dem Nachweis von Adenosintriphosphat (ATP), das in jeder lebenden Zelle den Träger der chemischen Energie darstellt (GRIFFITHS 1996). Der Nachweis erfolgt luminometrisch, indem während einer Vorreaktion aus Bakterienzellen extrahiertes ATP und freies ATP unter Anwesenheit von Mg^{2+} und Luciferin mithilfe des Enzyms Luciferase einen Komplex bilden. Dieser oxidiert mit Luftsauerstoff zu Oxiluciferin, das unter Emission seines Photons wieder in seinen Grundzustand zurückfällt. Das emittierte Photon wird luminometrisch erfasst und als Relative Light Units (RLU) angezeigt (BAUMGART und MEIERJOHANN 1994, KIRCHER et al. 1996, BRÄUNIG et al. 1995). Die Photonen geben Auskunft über die Höhe der Biomasse auf einer Oberfläche bzw. über den Grad der Verschmutzung durch Bakterien und Lebensmittelreste (KIRCHER et al. 1996, BECKER et al. 2004). Laut PURKL (2003) unterliegt die Biolumineszenz zwar zahlreichen Einflussfaktoren, ist aber in der Praxis für orientierende Keimzahlergebnisse ausreichend. Hohe Investitions- und laufende Kosten sind allerdings Nachteile dieses Verfahrens. Verschiedene Autoren berichteten, dass die Testergebnisse durch Reinigungs- und Desinfektionsmittel (BRÄUNIG und TRENNER 1996), durch die Bakterienart, die bakterielle Vermehrungsphase, das Redoxpotenzial, die Temperatur und den pH-Wert beeinflusst wurden (MOJE und HECHELMANN 1995, ORTH und STEIGERT 1996, POGGEMANN und BAUMGART 1996, HOFBAUER et al. 1997). Durch die beeinflussenden Faktoren wären die RLU-Werte nicht unmittelbar vergleichbar.

Die Aussagekraft des Biolumineszenzverfahrens wird in der Literatur kontrovers dargestellt: RIGARLISFORD (1992) und RUDOLPH et al. (1995) betonten den Vorteil des schnellen Erkennens ungenügender Reinigung und einer entsprechenden raschen Abhilfe. Dagegen war für BRÄUNIG und TRENNER (1996) ausschlaggebend, dass eine Kontrolle von Reinigung und Desinfektion auf Grund der Unzuverlässigkeit des Tests gar nicht möglich war. Der Test war allerdings laut Feststellungen anderer Autoren durchaus geeignet, Reinigungsergebnisse zu optimieren (ORTH und STEIGERT 1996) und kritische Arbeitsabläufe im Reinigungsablauf aufzudecken (RUDOLPH et al. 1995, WERLEIN 1996). Alle Autoren stimmten darin

überein, dass das Biolumineszenzverfahren eine mikrobiologische Untersuchung nicht ersetzen kann.

Der so genannte **Proteintest** stellt einen semiquantitativen Nachweis von Protein aus Bakterien, Pilzen oder Produktrückständen mittels chemischer Farbreaktionen dar. Dazu wird die zu prüfende Oberfläche mit einem Wattetupfer abgestrichen, der anschließend in ein Reagenzglas mit entsprechendem Testmedium überführt wird. Nach einer Reaktionszeit von 15 bis 25 Minuten kann der Test abgelesen werden. TRAUTSCH (2003) betonte bereits, dass bei diesem Test eine Unterscheidung von bakteriellem Protein und Protein aus Lebensmittelrückständen nach Herstellerangaben nicht möglich war. Der Denaturierungsgrad der Proteine hatte gemäß der Angaben der Autorin auf die Testergebnisse keinen Einfluss und die Ergebnisse deuteten auf eine höhere Empfindlichkeit als beim ATP-Verfahren hin. BECKER et al. (2001) bestätigten dem Test eine einfache Handhabung und beurteilten ihn als geeignet zur schnellen Hygienekontrolle von Oberflächen. WEBER et al. (1997) hingegen bemängelten die Aussagekraft bei der Kontrolle von Reinigung und Desinfektion. Bei Versuchen an verschiedenen rauen und glatten Oberflächen stellten die Autoren fest, dass der Proteintest zu stark variierenden Ergebnissen in Abhängigkeit von der Oberflächenbeschaffenheit führte. Ebenso zur Gruppe der indirekten mikrobiologischen Nachweisverfahren gehört die **Impedanzmessung**, die auf der Zeitdauer der Metabolisierungsrate vorhandener Substrate eines Nähr- bzw. Selektivmediums durch Bakterien beruht. Dabei entstehen Stoffwechselprodukte, die in Ionenform vorliegen und die Leitfähigkeit des Mediums ändern. Je höher die Ausgangsmenge der Bakterien desto schneller sind die Widerstandsänderungen des Mediums messbar und desto kürzer ist die sogenannte Detektionszeit (HEILIGENTHAL 1995, WAWERLA et al. 1996). Die Zusammensetzung der Bakterienpopulation ist dabei allerdings laut REISINGER (1995) von großer Bedeutung. SCHULENBURG und BERGMANN (2000) betonten, dass verschiedene Bakterienspecies jeweils voneinander abweichende metabolische Aktivität und damit auch unterschiedliche Impedanzwirksamkeit besitzen, was zu abweichenden Ergebnissen bei der Impedanzmessung führt. Deshalb drangen sie darauf, Messungen nur an einheitlichem Probenmaterial vorzunehmen. Die Resultate der Impedanzmessung liegen, je nach Fragestellung, innerhalb von 1 bis 12 Stunden vor (REISINGER 1995), die Kosten allerdings sind relativ hoch (BÜLTE und STOLLE 1989, WAWERLA et al. 1996).

Zur Gruppe der direkten mikrobiologischen Nachweisverfahren gehören folgende, auch kulturtechnische Nachweisverfahren genannte Methoden. Dabei unterscheidet man je nach Vorgehensweise bei der Probenahme zwischen destruktiven und nicht destruktiven Verfahren. Zur Beurteilung des Reinigungs- und Desinfektionserfolgs stehen eine Reihe nicht de-

struktiver Methoden zur Verfügung, bei denen Bakterienkolonien auf Nährböden kultiviert werden.

Beim **Nass-Trocken-Tupfer-Verfahren** (NTT-Verfahren) nach DIN 10113-1 (1997) wird eine Fläche definierter Größe zuerst mit einem mit steriler Verdünnungslösung angefeuchteten, danach mit einem trockenen Watteträger abgestrichen. Beide Tupferköpfe werden in steriler Verdünnungslösung nach definierter Vorgehensweise aufgeschüttelt, in dekadischer Reihe verdünnt und ein Aliquot anschließend auf Nährmedien überführt. Laut EINSCHÜTZ (2004) ergab vierfaches Aufschütteln der Tupfer die optimalen Wiederfindungsraten. Die beimpften Nährböden werden vorschriftsgemäß inkubiert und daraufhin abgelesen. Dieses Verfahren zur Keimzahlbestimmung weist eine hohe Genauigkeit auf. Es ist auf ebenen und unebenen sowie an schlecht zugänglichen Flächen anwendbar (SCHMIDT und BEM 1978, LOUWERS und KLEIN 1994a, REUTER 1994). Bei der Beprobung nasser oder feuchter Flächen ist es den Nährbodenkontaktverfahren überlegen. Die Beprobung mehrerer gleichartiger Flächen mit einem Tupfer ist bei Bedarf möglich (LOUWERS und KLEIN 1994a). Von Nachteil beim NTT-Verfahren sind der hohe Zeit-, Arbeits- und Materialaufwand (LOUWERS und KLEIN 1994a, SCHULZE und HILDEBRANDT 1995). Dessen Anwendung verlangt ein mikrobiologisches Labor (SCHMIDT und BEM 1978, LOUWERS und KLEIN 1994a) und erfordert Sachkenntnisse sowohl in der Ausführung der Probenahme, sowie für die Weiterverarbeitung und Auswertung der Proben im Labor (LOUWERS und KLEIN 1994a). Auf rauen Oberflächen bemängelten SCHMIDT und BEM (1978) große Ungenauigkeiten.

Das **Einfache Tupferverfahren** nach DIN 10113-2 (1997) unterscheidet sich dahingehend vom NTT-Verfahren, dass hier nur 1 trockener Watteträger statt eines Angefeuchteten und eines Trockenen verwendet werden. KELCH und FRIES (1959) ermittelten bei feuchten Tupfern eine erheblich höhere kulturelle Ausbeute als bei trockenen, ein Aufschütteln war allerdings trotzdem notwendig. THOMAS et al. (1955) stellten fest, dass durch einmaliges Abwischen von Oberflächen nur 1/3 der Keime von Oberflächen erfasst wurden, durch zweimaliges Abtupfen wurden 60 % erfasst. Auch dieses Verfahren weist eine relativ hohe Genauigkeit der Ergebnisse auf (LOUWERS und KLEIN 1994a), ist einfach in der Anwendung (LOUWERS et al. 1995), eine gewisse Sachkenntnis ist jedoch erforderlich. Schlecht zugängliche Probenahmestellen sind mit diesem Verfahren gut zu erreichen (REUTER 1994), auf rauen Oberflächen ist es schlecht anwendbar (LOUWERS und KLEIN 1994a).

Eine weitere, oft angewandte Möglichkeit zur Bestimmung des mikrobiologischen Status von Oberflächen nach Reinigung und Desinfektion sind **Nährbodenkontaktverfahren**. Das Abklatschverfahren nach DIN 10113-3 dient der semiquantitativen Bestimmung des Oberflächenkeimgehalts. Dabei wird ein Nährboden mit konvexer Oberfläche auf der zu prüfenden Stelle abgerollt und anschließend im Brutschrank inkubiert. Nach der Bebrütung werden die Kolonie bildenden Einheiten (KbE) auf dem Nährboden gezählt. Praktisch ist dabei die direk-

te Übertragung der Keime von der Probenahmestelle auf den Nährboden (SCHMIDT und BEM 1978) sowie die schnelle Durchführbarkeit dieses Verfahrens (LOUWERS und KLEIN 1994a, HILLER et al. 1995, SCHULZE und HILDEBRANDT 1995, RÜHLMANN und FELDHOUSEN 1996). Als Nachteil sahen LOUWERS und KLEIN (1994a), dass auch Nährbodenkontaktverfahren erheblichen Sachverstand der Anwender verlangen und sie häufig nicht in der gewünschten Weise an schlecht zugänglichen Probenahmestellen einsetzbar sind. Ein Verrutschen des Nährbodens auf der Probenahmestelle muss – wie die Anwendung auf nassen Flächen – unbedingt vermieden werden (LOUWERS und KLEIN 1994a). Bei der Beprobung rauer Oberflächen besteht die Gefahr, dass in tiefen Rillen sitzende Mikroorganismen nicht erfasst werden (LOUWERS und KLEIN 1994a), deshalb schlugen SCHMIDT und BEM 1978 sowie LOUWERS und KLEIN (1994a) vor, mit diesem Verfahren lediglich ebene und leicht konvexe Flächen zu beproben. RÜHLMANN und FELDHOUSEN (1996) erkannten, dass sich bei diesem semiquantitativen Verfahren nur ein Abbild der Oberfläche erzeugen lässt. Ob eine Kolonie aus einer Einzelzelle oder aus einem Keimaggregat entstanden ist, war nicht nachvollziehbar. Die Bakterienwiederfindungsraten bei diesem Verfahren waren geringer als beim Tupfverfahren (LOUWERS und KLEIN 1994a, BASLER und STOLLE 2000). Bei sehr hoher Keimbelastung sind Nährbodenkontaktverfahren nicht aussagekräftig, da nur Rasenwachstum erkennbar ist (SCHMIDT und BEM 1978, HILLER et al. 1995, SCHULZE und HILDEBRANDT 1995, SCHÖNENBRÜCHER und BÜLTE 2004).

Sowohl bei den beiden Tupfverfahren als auch bei den Nährbodenkontaktverfahren erkannten RÜHLMANN und FELDHOUSEN (1996), dass bei glatten Flächen die höchsten Keimausbeuten zu erzielen waren. Auf rauen, zerklüfteten und porösen Oberflächen hingegen konnten sich Mikroorganismen der Probenahme entziehen (LOUWERS und KLEIN 1994a, PFANNENSCHMIDT et al. 2001), da dort die Haftung der Bakterien begünstigt sei. LOUWERS et al. (1995) stellten fest, dass bei der Beprobung von V2A-Stahl und Polyethylenoberflächen nur geringe Abweichungen bei der Anzahl der gefundenen KbE pro cm² erkennbar waren. Das gleiche bestätigten SCHULZE und HILDEBRANDT (1995) bei Lebensmittelgebrauchsgegenständen aus Metall und anderen Materialien.

Untersuchungen von RÜHLMANN und FELDHOUSEN (1996) ergaben beim NTT die höhere Keimausbeute als bei Nährbodenkontaktverfahren, da beim NTT-Verfahren organische Reste mit darin befindlichen Mikroorganismen aufgenommen werden.

Je nach Probenahmeverfahren, nach örtlicher Entfernung vom Labor und nach Art des Transports von Probenmaterial kann die Aussagekraft des angewandten Verfahrens stark negativ beeinflusst werden (KLEINER 2000).

DIN 10113-1 empfiehlt bei der Aufbewahrung des Wattetupfers bis zur Herstellung der Erstverdünnung unter Lichtabschluss 24 Stunden und Temperaturen von 0 °C und + 5 °C nicht zu überschreiten.

Das NTT ist am ehesten geeignet für die Feststellung des allgemeinen Keimgehalts. Wegen des großen Arbeits-, Zeit- und Materialaufwands ist es nicht für die Routine geeignet, stellt aber ein sehr exaktes Verfahren dar, das generell die höchste Keimausbeute bietet (Referenzverfahren) (WEBER et al. 1997, KLEINER 2000, PFANNENSCHMIDT et al. 2001). Laut LOUWERS et al. (1995) ist aber auch das Einfache Tupfverfahren zur Effektivitätsprüfung von Reinigung und Desinfektion vertretbar, da es einen Kompromiss zwischen Reproduzierbarkeit und nötigem Aufwand darstellt.

2.2.5 Hygienedesign

Konstruktion und Bau von Maschinen, Anlagen und Einrichtungen für den Lebensmittelbereich im so genannten „Hygienedesign“ sind eine fachlich selbstverständliche Forderung (DUNSMORE et al. 1981, LELIEVELD 1985, GRASSHOFF 1992, CURIEL et al. 1993, MOSTELLER und BISHOP 1993, CHISTI und MOO-YOUNG 1994, LELIEVELD 1994, GIBSON et al. 1999, CHMIELEWSKI und FRANK 2003, HOFMANN und SOMMER 2006, THEVENOT et al. 2006, N.N. 2008d). Geringerer Wartungsaufwand und vereinfachte Reinigung gelten dabei als oberste Ziele (JABLONSKI und TEUBLER 2007). Alle Bauteile sollen derart konstruiert und Materialien so ausgewählt und beschaffen sein, dass Ansammlungen von Feuchtigkeit, Produktrückständen und anderem Schmutz weitgehend unterbunden werden und somit effizientes Reinigen möglich ist. Leitlinien zum Hygienedesign mit allgemeingültigem Charakter und speziellen Anforderungen an bestimmte Bauteile wurden erarbeitet, die Forderungen aus der Wissenschaft (HAUSER 1992, CURIEL et al. 1993, LELIEVELD et al. 2003, JENSEN und FRIIS 2005) zusammenfassen. In den Tabellen 2.10 und 2.11 sind die Anforderungen von RICHTLINIE 2006/42/EG⁷⁾, DIN EN ISO 14159 (2008), DIN EN 1672-2 (2005) und DOCUMENT 8 der GUIDELINES der European Hygienic Engineering & Design Group (EHEDG, 2004), die teils Punkte näher erläutern und teils gegenseitig ergänzen, in relevanten Auszügen gegenübergestellt.

⁷⁾ Ersatz für RICHTLINIE 98/37/EG; ab Dezember 2009 verbindlich, in dieser Arbeit zitierte Abschnitte in der alten und neuen Richtlinie identisch

Tabelle 2.10 Vergleichende Darstellung maßgeblicher Anforderungen zum hygienischen Design von Konstruktionswerkstoffen (RICHTLINIE 2006/42/EG, DIN EN ISO 14159 (2008), DIN EN 1672-2 (2005) und DOCUMENT 8 der EHEDG GUIDELINES (2004))

Anwendungsbereich	RICHTLINIE 2006/42/EG	DIN EN ISO 14159 (2008)	DIN EN 1672-2 (2005)	EHEDG GUIDELINES DOC. 8 (2004)
Ohne weitere Spezifizierung	Gewährleistung der Reinigbarkeit, außer bei Einwegteilen	Gewährleistung von <ul style="list-style-type: none"> - Haltbarkeit bei bestimmungsgemäßem Gebrauch - Reinigbarkeit - Erforderlichenfalls Desinfizierbarkeit - Widerstandsfähigkeit gegenüber Oberflächenbeschädigungen 	Keine Angaben	Keine Angaben
Produktberührende Bereiche von Maschinen	Keine Angaben	<ul style="list-style-type: none"> - Korrosionsbeständigkeit - Produkt nicht kontaminierend, absorbierend oder toxisch - Temperaturbeständigkeit 	Keine Übertragung unerwünschter Gerüche, Farb- oder Geschmacksstoffe auf Lebensmittel	Auflistung von Edelstahlsorten und deren erforderlichen Eigenschaften

Tabelle 2.11 Vergleichende Darstellung maßgeblicher Anforderungen zum hygienischen Design bezüglich Gestaltung und Herstellung im Lebensmittelbereich gemäß RICHTLINIE 2006/42/EG, DIN EN ISO 14159 (2008), DIN EN 1672-2 (2005) und DOCUMENT 8 der EHEDG GUIDELINES (2004)

Anwendungsbereich	RICHTLINIE 2006/42/EG	DIN EN ISO 14159 (2008)	DIN EN 1672-2 (2005)	EHEDG GUIDELINES DOC. 8 (2004)
Allgemein	Keine Angaben	Keine Angaben	Keine Angaben	Vermeidung von Kondensation; falls nicht möglich, abfließend vom Lebensmittelbereich
Oberflächenstruktur	Glatt, keine Erhöhungen oder Vertiefungen zum Zurückbleiben organischer Stoffe	Defektfreiheit	Glatt, aus einem Stück oder abgedichtet	$R_a > 0,80 \mu\text{m}^{(8)}$ nur akzeptabel, wenn Reinigungstest ausreichendes Ergebnis bringt
Reinigung und Desinfektion	Reinig- und Desinfizierbarkeit	<ul style="list-style-type: none"> - Reinig-, Desinfizier-, Pasteurisiert-, Sterilisierbarkeit - Zugänglichkeit für Reinigung und Desinfektion - Falls schlechte Zugänglichkeit, Teile demontierbar und leicht abnehmbar - Alternative: CIP 	Keine Angaben	<ul style="list-style-type: none"> - Falls Kompromiss zwischen Hygiene und Funktionalität, Kompensation durch intensivere Reinigung und Desinfektion - Dokumentation - Bei CIP-fähigen Geräten Beweis, dass ohne Demontage ausreichendes Reinigungs- und Desinfektionsergebnis

⁸⁾ R_a -Wert gibt die Rauigkeit einer Oberfläche an; je höher der Wert, desto rauer die Oberfläche

Fortsetzung Tabelle 2.11 Vergleichende Darstellung maßgeblicher Anforderungen zum hygienischen Design bezüglich Gestaltung und Herstellung im Lebensmittelbereich gemäß RICHTLINIE 2006/42/EG, DIN EN ISO 14159 (2008), DIN EN 1672-2 (2005) und DOCUMENT 8 der EHEDG GUIDELINES (2004)

Anwendungsbereich	RICHTLINIE 2006/42/EG	DIN EN ISO 14159 (2008)	DIN EN 1672-2 (2005)	EHEDG GUIDELINES DOC. 8 (2004)
Abfluss	Vollständige Ableitbarkeit der von Lebensmitteln oder Reinigungs- und Desinfektionsmitteln stammenden Flüssigkeiten, Gase und Aerosole	Konstruktion selbst abfließender oder entleerbarer Oberflächen (siehe auch Abbildung 8.1, Seite 88)	Keine Angaben	<ul style="list-style-type: none"> - Vermeidung horizontaler Flächen - Flächenneigung vom Produkt wegleitend
Toträume	Keine Angaben	Vermeidung von Toträumen	Keine Angaben	keine Angaben
Verbindungen	Keine Stellen, an denen organische Stoffe zurückbleiben können	Durchgehendes Verschweißen oder Verkleben (siehe auch Abbildungen 8.2 und 8.3, Seiten 88 und 89)	Keine Angaben	Sorgfältig bearbeitete Nähte ohne Nacharbeiten akzeptabel
Innere Winkel, Ecken, Rillen	<ul style="list-style-type: none"> - Kanten und Aussparungen auf Minimum reduziert - Ausrundungen von Innenflächen mit großen Radien 	<ul style="list-style-type: none"> - Gute Reinigbarkeit - Rillen breiter als tief - Kehlungen mit reinigbaren inneren Winkeln und Ecken (siehe auch Abbildung 8.4, Seite 89) 	Keine Angaben	Keine Angaben

Fortsetzung Tabelle 2.11 Vergleichende Darstellung maßgeblicher Anforderungen zum hygienischen Design bezüglich Gestaltung und Herstellung im Lebensmittelbereich gemäß RICHTLINIE 2006/42/EG, DIN EN ISO 14159 (2008), DIN EN 1672-2 (2005) und DOCUMENT 8 der EHEDG GUIDELINES (2004)

Anwendungsbereich	RICHTLINIE 2006/42/EG	DIN EN ISO 14159 (2008)	DIN EN 1672-2 (2005)	EHEDG GUIDELINES DOC. 8 (2004)
Wellendichtungen, Lager	Keine Angaben	<ul style="list-style-type: none"> - Hygienische Wellendichtungen, leicht zugänglich für Reinigung u. Inspektion - Lager im LM-Bereich ungeschmiert oder produktgeschmiert und reinigbar 	Produktberührende Lager mit Lebensmittelschmierstoffen geschmiert, ungeschmiert oder produktgeschmiert und reinigbar	Keine Angaben
Öffnungen, Abdeckungen	Keine Angaben	<ul style="list-style-type: none"> - Gestaltung ohne jegliche nachteilige Beeinflussung (Vermeidung von Eindringen oder Ansammeln von Schmutz) (siehe auch Abbildung 8.5, Seite 90) - Reinigbarkeit 	Keine Angaben	Keine Angaben
Betriebsstoffe	Vermeidung von Kontakt gesundheitsschädlicher Betriebsstoffe mit Produkt	<ul style="list-style-type: none"> - Vermeidung von Produktkontakt - Bei möglichem Kontakt Verwendung nicht toxischer Betriebsstoffe 	Keine Angaben	Kein Produktkontakt

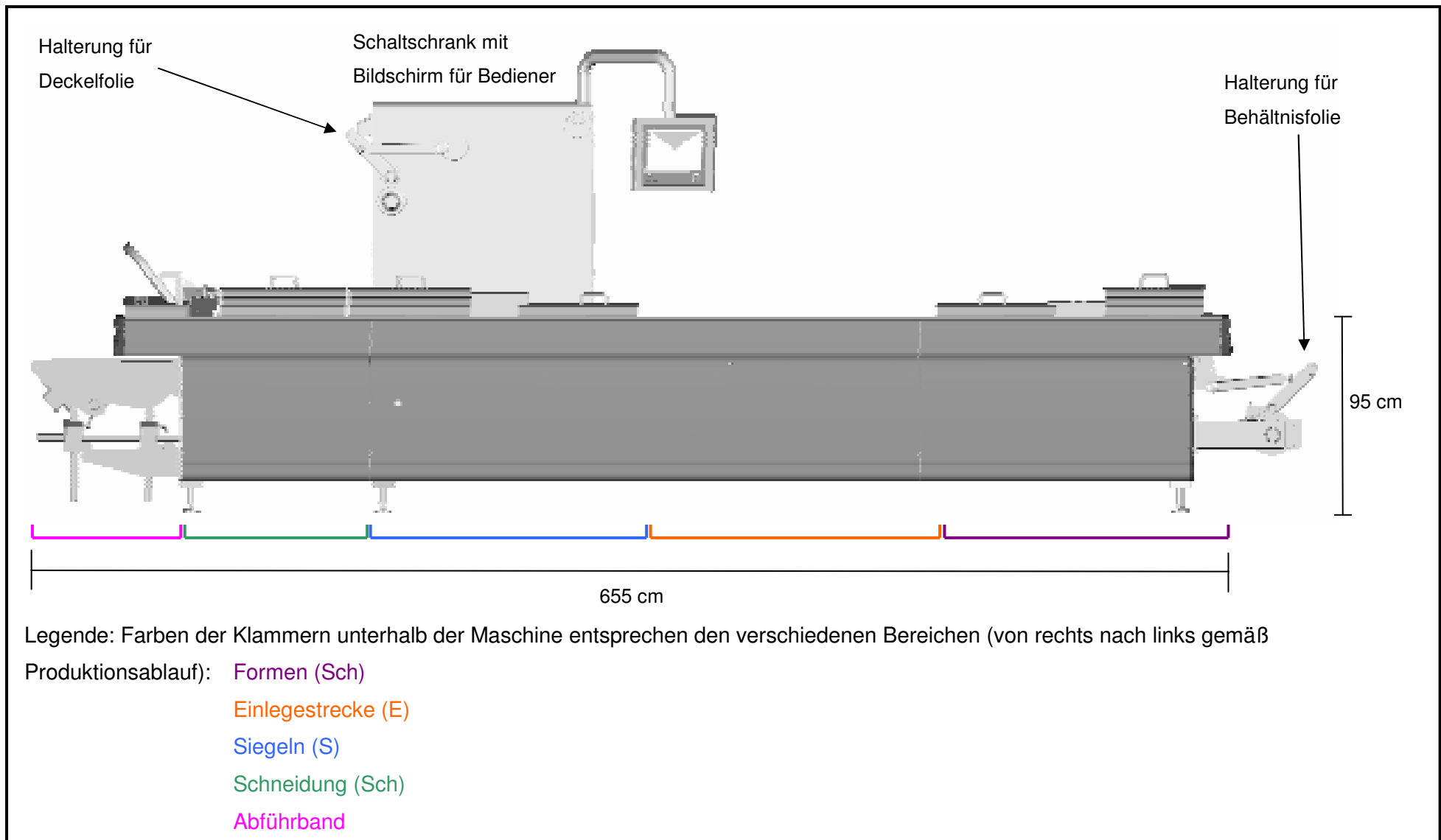
Zur Verifizierung auf Übereinstimmung mit den Hygieneanforderungen im jeweiligen Einsatzgebiet einer Maschine fordert DIN EN ISO 14159 (2008) die Überprüfung der technischen Spezifikationen und Zeichnungen, der fertigen Maschinen und/oder die Durchführung von Praxistests, zum Beispiel auf Reinigbarkeit. Außerdem wird gefordert, in einem Betriebshandbuch Anleitungen über Routineabläufe für Reinigung, Desinfektion, Spülung und für die Überprüfung der Sauberkeit zu nehmen. Empfehlungen für passende Reinigungsmittel, v. a. bezüglich der chemischen Resistenz der eingesetzten Materialien und eine Anleitung für eine eventuelle Demontage zu Reinigungszwecken soll darin enthalten sein. Falls Risiken einer Gefährdung durch hygienische Gestaltung der Maschine nicht eingeschränkt werden können oder Kompromisse zwischen Produkt oder Prozesssicherheit erforderlich sind, werden Zusatzinformationen in der Betriebsanleitung gefordert (DIN EN ISO 14159 (2008)).

3 Eigene Untersuchungen

Ziel der eigenen Untersuchungen war es, die Effektivität eines offenen CIP-Systems in einer Lebensmitteltiefziehverpackungsmaschine zu überprüfen. Es handelte sich dabei um den Typ R 535 (Firma Multivac, Wolfertschwenden) in dessen Innenraum ein CIP-Reinigungssystem integriert ist.

Tiefziehverpackungsmaschinen wie diese formen unter thermischem Einfluss aus Folien Behältnisse beispielsweise für Lebensmittel (Bereich „Formen“). Die Folie wird dabei durch zwei Transportketten jeweils am Folienrand fixiert und durch die Maschine geführt. Kettenführungsprofile leiten diese Ketten auf beiden Seiten der Maschine. Im Bereich „Einlegestrecke“ werden diese Behältnisse mit Lebensmitteln oder anderen Produkten bestückt. Anschließend werden die befüllten Behältnisse mit einer Deckfolie versiegelt (Bereich „Siegeln“). Im Bereich „Schneidung“ werden die hergestellten Verpackungen je nach Form ausgeschnitten und über ein Abführband aus der Maschine befördert. Abbildung 3.1 zeigt eine Übersichtszeichnung der im Rahmen dieser Studie geprüften Maschine.

Abbildung 3.1 Tiefziehverpackungsmaschine Multivac R 535 (Ansicht von der Seite)



Um eine effektive Reinigung und Desinfektion durch ein CIP-System in der Maschine zu erreichen, wies dieses System folgende Ausgestaltung auf: Um den Innenraum der Maschine weitestgehend durch den Reinigungsvorgang erreichbar zu machen, waren die Bauteile in offener Bauweise in der Maschine montiert. Auf gebündelte Kabelstränge und geschlossene Kabelkanäle wurde verzichtet, Kabel und Leitungen waren auf Abstand oder offen in Gitterkanälen verlegt, Maschinenfüße in offenem, gut zugänglichem Profil gestaltet, Schutzabdeckungen waren abgeschrägt und wiesen keine unzugänglichen Bereiche auf.

In den einzelnen oben genannten Maschinenbereichen waren, wie in Abbildung 3.3 (Seite 41) schematisch dargestellt, Düsen in verschiedener Anzahl eingebaut und gemäß den funktionellen Bereichen der Maschine in Waschzonen unterteilt. Die Düsen in den Bereichen „Formen“ (F), „Einlegestrecke“ (E) und „Siegeln“ (S) waren an einer dafür vorgesehenen waagrechten Schiene, die einen Abstand von 28 cm zum Boden aufwies, angebracht. Für die Düsen in den Bereichen „Schneidung“ (Sch) und „Abführband“ waren Traversen mittels Klemmstücken zur Befestigung angebracht. Zur Reinigung der Kette waren jeweils links und rechts im Bereich „Schneidung“ zusätzliche Düsen installiert, an denen sich die Kette während Reinigung und Desinfektion vorbei bewegte. In die Bereiche „Formen“, „Einlegestrecke“ und „Siegeln“ waren jeweils sechs, in die Zone „Schneidung“ waren vier rotierende Einzeldüsen eingebaut, die innerhalb der einzelnen Zonen zur Unterscheidung mit Ziffern von 1 bis 4, bzw. von 1 bis 6 durchnummeriert wurden. Zur Reinigung des Kettenführungsprofils und des Außenrahmens, also des Grundgerüsts der Maschine samt den seitlichen Schutzabdeckungen, waren lange Düsenrohre in waagrecht Lage in die Maschine eingebaut. Diese wurden jeweils rechts und links der Maschine in zwei separate Waschzonen eingeteilt (Kettenführung 1 bzw. 2 und Außenrahmen 1 bzw. 2). Das Abführband, das die fertig verpackte Ware abtransportiert, bewegte sich an zwei fest eingebauten Düsenstöcken vorbei.

Abbildung 3.2 zeigt einen Abschnitt der Maschine im Bereich „Einlegestrecke“ schräg von oben. Ein Teil der Schutzabdeckungen wurde in dieser Abbildung zum besseren Einsehen in die Maschine entfernt. Die darauf folgende Abbildung 3.3 zeigt die Zonen und die Verteilung der einzelnen Düsen in der Maschine schematisch von oben.

Abbildung 3.2 Einsicht in Maschine von schräg oben im Bereich "Einlegestrecke"

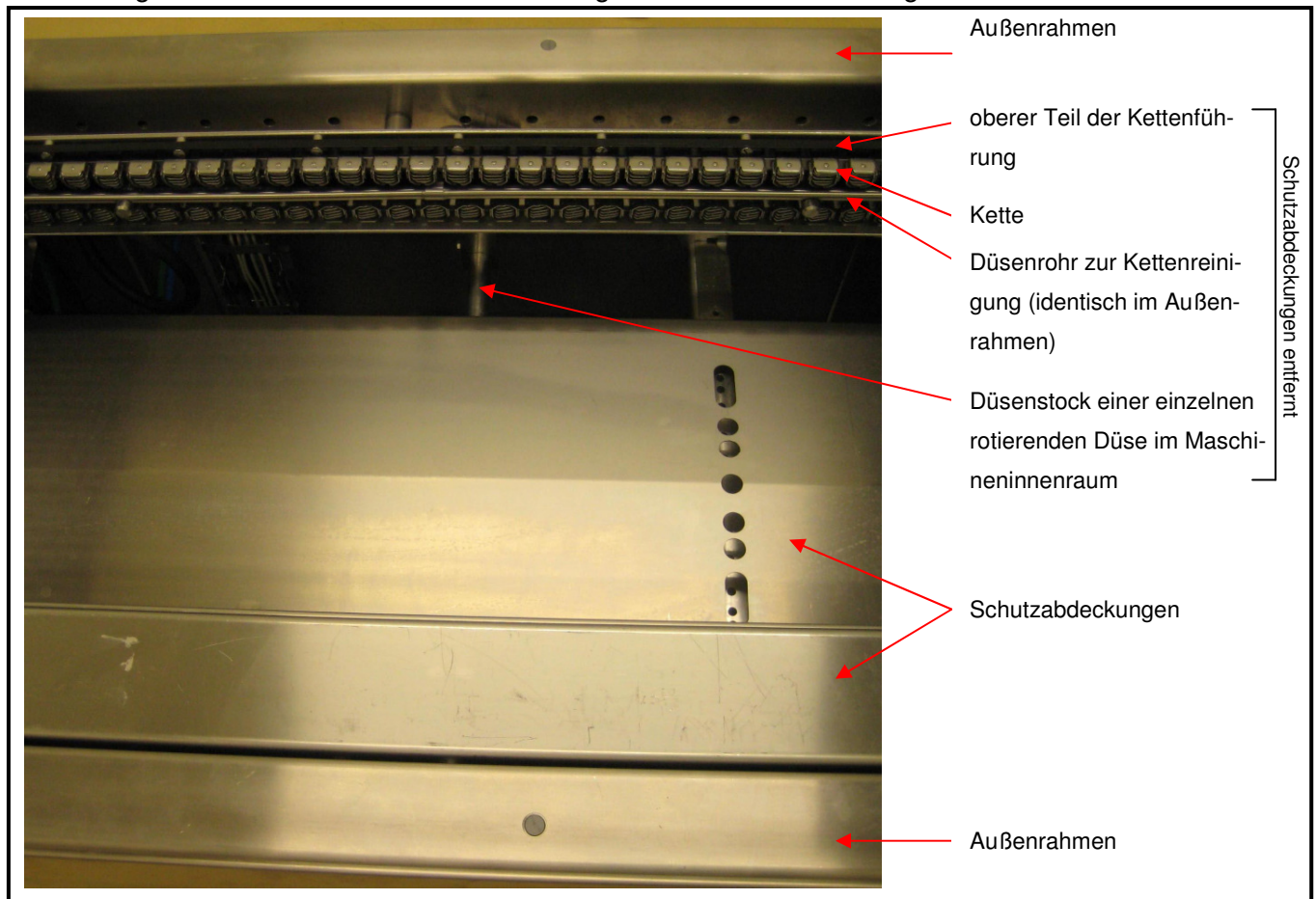


Abbildung 3.3 Nummerierung und Verteilung der Düsen in der Tiefziehverpackungsmaschine (Ansicht von oben)

Abführ- band	Außenrahmen 2				Außenrahmen 1			
	Kettenführung 2				Kettenführung 1			
	Sch3		S5	S1	E6	E5	E3	E1 F5 F1
		Sch2	Sch1	S4	S3			F4 F3
	Sch4		S6	S2		E4	E2	F6 F2
	Kettenführung 2				Kettenführung 1			
	Außenrahmen 2				Außenrahmen 1			

Legende (von rechts nach links gemäß Ablauf von Reinigung und Desinfektion):

Waschzone **Formen (F)**

Waschzone **Einlegestrecke (E)**

Waschzone **Siegeln (S)**

Waschzone **Schneidung (Sch)**

Waschzone **Abführband**

Die Beaufschlagung der Düsen mit Wasser bzw. mit Reinigungs- und Desinfektionslösungen war durch eine der Maschine vorgeschaltete Versorgungseinheit gewährleistet, in welcher der Druck erhöht und dem Leitungswasser Reinigungs- und Desinfektionschemikalien zugemischt wurden. Die Düsen in der Tiefziehverpackungsmaschine wurden über Schläuche von der Versorgungseinheit gespeist. Die Maschine befand sich während aller durchgeführten Versuche in einem Raum, in dem die Temperaturen konstant gehalten werden konnten.

3.1 Vorversuch zur Messung von Wasserdruck und Wasserauswurfmengen⁹⁾

Vor Durchführung der eigentlichen Tests zur Überprüfung der Reinigungswirkung des CIP-Systems wurden die Drücke und die Wasserdurchflussmengen an den einzelnen Düsen der Anlage getestet und auf Kontinuität überprüft. Dazu wurde eine Reinigungszeit von 20 Sekunden mit Leitungswasser eingestellt. Die an den einzelnen Düsen austretenden Wassermengen wurden ermittelt, indem auf jede Düse der jeweils überprüften Waschzone ein gleichartiges Schlauchstück mit einem Innendurchmesser von 18 mm aufgebracht wurde, um ein gezieltes Auffangen und anschließendes Abmessen des Wassers mittels weitlumiger Messbecher zu ermöglichen. Aus den einzelnen Wasserdurchflussmengen jeder Düse wurde anschließend jeweils der arithmetische Mittelwert berechnet. Dies erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{arithmetischer Mittelwert } \bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

Die Druckmessung erfolgte durch Manometer, die mithilfe eines Adapterstückes zwischen den Düsenstöcken und den jeweiligen zu überprüfenden Düsen eingeschraubt wurden. Zur Prüfung der Zuverlässigkeit wurde jede Messung fünfmal durchgeführt, während die CIP-Reinigung mit Leitungswasser in Betrieb war. Bei allen Versuchen dieser Studie wurde Leitungswasser in Trinkwasserqualität verwendet.

3.2 Überprüfung der Reinigungseffektivität des CIP-Systems

Zur Überprüfung des Reinigungssystems kamen in der vorliegenden Studie drei verschiedene Prüfverfahren zum Einsatz:

- Riboflavintest
- NAD-Schnelltest
- Nass-Trocken-Tupfverfahren

⁹⁾ Materialien mit Herstellerangaben siehe Anhang Punkt 8.2 (Seiten 91/92)

Zur Auswertung der Ergebnisse aller in dieser Arbeit durchgeführten Tests wurden Methoden deskriptiver Statistik angewandt (SACHS 2004).

3.2.1 Riboflavintest

Ziel dieser Versuchsreihe war die Überprüfung der vollständigen Reinigbarkeit der Maschine und das Erkennen von Schwachstellen bei der Reinigung anhand einer fluoreszierenden Testflüssigkeit. Versuchsaufbau und -ablauf erfolgten in Anlehnung an die Vorgaben des MERKBLATTS RIBOFLAVINTEST FÜR KEIMARME ODER STERILE VERFAHRENS-TECHNIKEN (2007) des VDMA. Der Versuch wurde wie in Abbildung 3.4 (Seite 44) schematisch dargestellt, insgesamt fünfmal durchgeführt. Zur laufenden Kontrolle und Dokumentation der einzelnen Versuchsschritte kam eine Checkliste zum Einsatz. Jeder durchgeführte Versuch wurde fortlaufend nummeriert.

3.2.1.1 Material¹⁰⁾

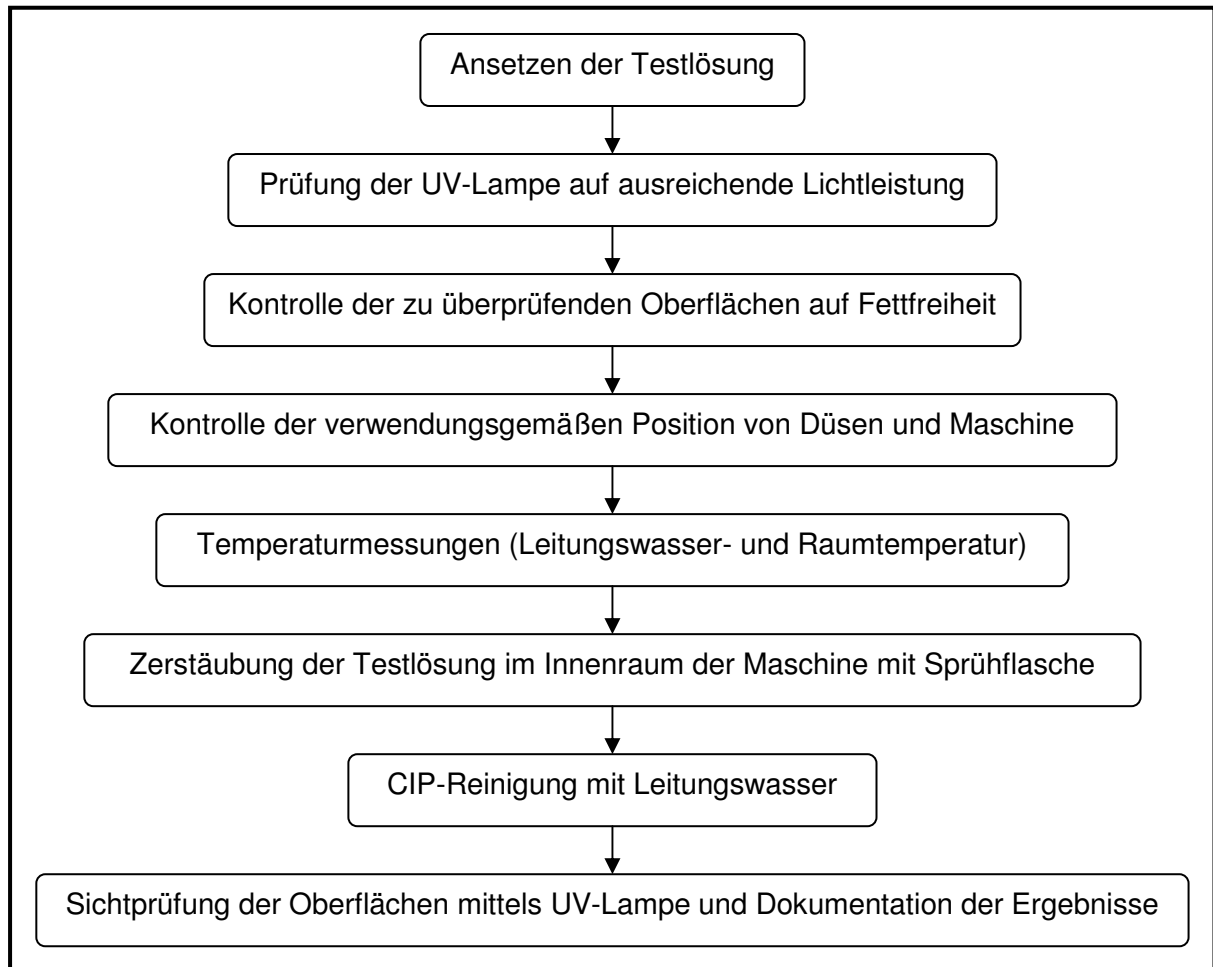
Zur Durchführung des Tests wurde eine **Testlösung** aus destilliertem Wasser, Riboflavin und Hydroxyethylcellulose verwendet, die unter UV-Licht fluoresziert (Zusammensetzung siehe Anhang Punkt 8.3, Seite 93). Sie wurde mithilfe einer Überdruck-Sprühflasche mit Zerstäuber auf die zu überprüfenden Oberflächen im Inneren der Tiefziehverpackungsmaschine aufgebracht.

Die Wellenlänge der verwendeten **UV-Lampe** betrug 365 nm. Die Einsatzfähigkeit der Lampe wurde vor Gebrauch geprüft. Dazu wurde eine 1:1000-Verdünnung der Riboflavinlösung hergestellt und mit der UV-Lampe in einem abgedunkelten Raum bestrahlt. War Fluoreszenz zu erkennen, wurde die Lampe als für den Versuch einsatzbereit beurteilt.

¹⁰⁾ Materialien mit Herstellerangaben siehe Anhang Punkt 8.2 (Seiten 91/92)

3.2.1.2 Methoden

Abbildung 3.4 Flussdiagramm zum Ablauf des Riboflavintests



Unmittelbar vor Testbeginn wurde die Riboflavin-Testlösung hergestellt und die UV-Lampe geprüft. Danach wurden die Schutzabdeckungen der Maschine entfernt, bzw. die Seitenverkleidungen geöffnet und die Verpackungsmaschine auf optische Sauberkeit und Fettfreiheit überprüft. Bei Anwesenheit von Fett wurde dieses mit Papiertüchern und nötigenfalls mit Alkohol entfernt. Es folgte die Überprüfung der verwendungsgemäßen Stellung aller Düsen und die der Maschine. Leitungswasser zum Spülen sollte bei diesem Versuch laut Merkblatt Temperaturen zwischen + 12 °C und + 25 °C aufweisen.

Die zu untersuchenden Oberflächen im Innenraum der Maschine wurden mithilfe der Sprühflasche mit Testlösung benetzt. Dabei wurde in abgedunkelter Umgebung anhand der UV-Lampe auf eine homogene Verteilung und eine vollständige Benetzung aller zu überprüfenden Oberflächen geachtet. Die Testlösung wurde so aufgesprüht, dass alle Stellen fluoreszierten, aber keine Bildung großer Tropfen zu erkennen war. Nach Anbringen der Seitenverkleidungen und aller vorhandener Schutzabdeckungen folgte der Ablauf des Spülprogramms. Da in diesem Versuchsabschnitt die Erreichbarkeit der zu reinigenden Stellen ü-

berprüft werden sollte, erfolgte eine Spülung durch das CIP-System mit Leitungswasser ohne Reinigungs- oder Desinfektionsmittelzusätze. Als Spülzeit wurden 20 Sekunden gewählt. Durch Sichtprüfung mittels UV-Lampe im dunklen Raum wurden anschließend die zu untersuchenden Oberflächen auf verbliebene Fluoreszenz kontrolliert. Alle Ergebnisse wurden in Listen (Muster siehe Anhang Abbildung 8.6, Seite 95) und anhand von Farbbildern dokumentiert.

3.2.2 NAD-Schnelltest

Das Ziel dieses Tests war die Überprüfung des Reinigungserfolgs auf Oberflächen der Maschine nach künstlicher Kontamination und Einsatz des CIP-Systems. Der Test wurde insgesamt fünfmal durchgeführt. Zur Kontrolle der einzelnen Versuchsschritte und zur Dokumentation der Ergebnisse wurde eine Checkliste entworfen (siehe Anhang Abbildung 8.7, Seiten 96-98). Jeder durchgeführte NAD-Test wurde fortlaufend nummeriert.

3.2.2.1 Material¹¹⁾

Bei der Auswahl der **Probenahmestellen** wurden alle Waschzonen der Maschine berücksichtigt. Sie wurden so gewählt, dass die verschiedenen eingebauten Materialien (Metalle, Kunststoffe) in unterschiedlichen räumlichen Lagen und Neigungen beprobt werden konnten. Da ein großer Anteil der Oberflächen an und in der Maschine aus Edelstahl besteht, hat dieses Material auch einen großen Anteil an der Gesamtzahl aller beprobten Stellen. Bei der Wahl der Probenahmestellen wurde Wert darauf gelegt, dass diese reproduzierbar zugänglich waren und im Hinblick auf die präzise mikrobiologische Untersuchung mindestens eine Fläche von 25 cm² aufwiesen. Alle 26 Probenahmestellen und deren Charakteristika sind in Tabelle 3.1 aufgelistet:

¹¹⁾ Materialien mit Herstellerangaben siehe Anhang Punkt 8.2 (Seiten 91/92)

Tabelle 3.1 Probenahmestellen, Waschzone, Material und Oberflächenneigung

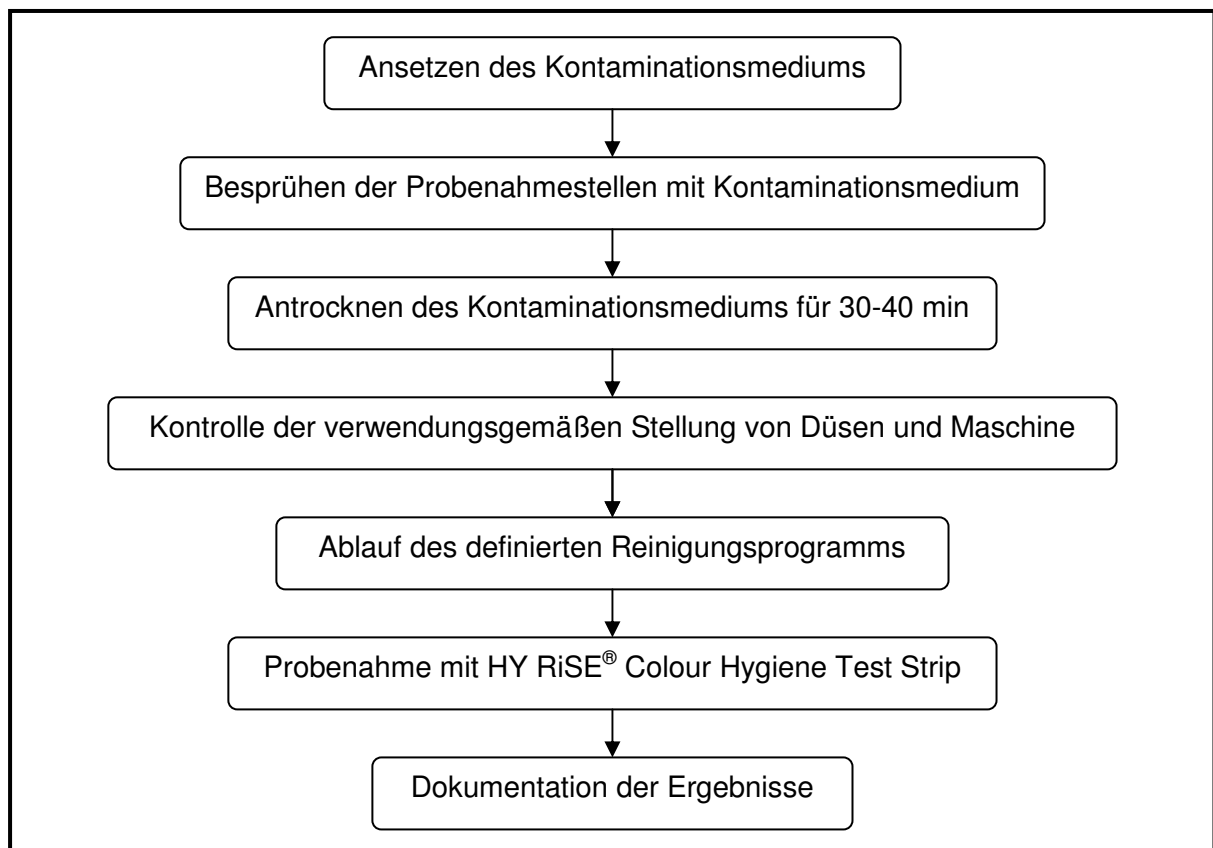
Probe- nah- mestelle	Waschzone (Bezeichnung nach Abbildung 3.3, Seite 41)	Material der beprobten Oberfläche	Neigung der beprobten Ober- fläche
1	F	Edelstahl (V2A)	waagrecht, mit geringer Neigung (Winkel ca. 5°)
2	F	Edelstahl (V2A)	senkrecht
3	F	Aluminium eloxiert	waagrecht
4	F	Edelstahl (V2A)	senkrecht
5	E	Gusseisen lackiert	rund (Probennahme oben)
6	E	Edelstahl (V2A)	senkrecht
7	Außenrahmen 1	Edelstahl (V2A)	senkrecht
8	E	Edelstahl (V2A)	senkrecht
9	Kettenführung 1	Edelstahl (V2A)	waagrecht, mit geringer Neigung (Winkel ca. 5°)
10	E	Gusseisen lackiert	senkrecht
11	E	Aluminium eloxiert	waagrecht
12	E	Polyoxymethylen	waagrecht
13	E	Edelstahl (V2A)	waagrecht
14	E	Edelstahl (V2A)	senkrecht
15	S	Silikon	rund (Probennahme oben)
16	S	Polyvinylchlorid	rund (Probennahme oben)
17	S	Edelstahl (V2A)	senkrecht
18	S	Edelstahl (V2A)	senkrecht
19	S	Edelstahl (V2A)	senkrecht
20	S	Edelstahl (V2A)	waagrecht, mit geringer Neigung (Winkel ca. 5°)
21	Kettenführung 2	Edelstahl (V2A)	waagrecht, mit geringer Neigung (Winkel ca. 5°)
22	Sch	Aluminium eloxiert	waagrecht
23	Sch	Edelstahl (V2A)	senkrecht
24	Außenrahmen 1	Edelstahl (V2A)	senkrecht
25	Kette	Edelstahl (V2A)	veränderlich
26	Abführband	Polypropylen	veränderlich

Zur künstlichen Verschmutzung der Maschine wurde ein **Kontaminationsmedium** aus den Bestandteilen Fleischsaft, Rohmilch und Crème fraîche herangezogen (Herstellung siehe Anhang Seite 93). Die Kontaminationslösung wurde anhand einer Sprühflasche auf die zu beprobenden Stellen der Maschine aufgetragen. Zur Überprüfung der Sauberkeit der beprobten Oberflächen in der Maschine nach Reinigung und Desinfektion wurde der HY RiSE[®] Colour Hygiene Test Strip verwendet.

3.2.2.2 Methoden

An der Verpackungsmaschine wurden nach Abnahme der Schutzabdeckungen und Öffnen der Seitenverkleidungen die in Tabelle 3.1 aufgelisteten Stellen, die in allen folgenden Versuchen überprüft werden sollten, mit wasserfestem Stift markiert. Sie wurden bereits 24 Stunden vor Versuchsbeginn mit Alkohol entfettet.

Abbildung 3.5 Flussdiagramm zum Ablauf des NAD-Tests



Unmittelbar vor Beginn der Versuchsdurchführung wurde die Kontaminationslösung hergestellt. Die markierten Stellen im Inneren der Tiefziehverpackungsmaschine wurden gleichmäßig mit Kontaminationslösung besprüht. Danach wurden 30 bis 40 Minuten abgewartet, bis das Kontaminationsmedium an allen Stellen angetrocknet war.

Nach Kontrolle der Düsen und der Maschine auf verwendungsgemäße Stellung, Schließen der Seitenverkleidungen und Auflegen der Schutzabdeckungen wurde ein definiertes Reinigungsprogramm mit alkalischem Reinigungsmittel und Amphotensid-Desinfektionsmittel gestartet (Programm siehe Tabelle 8.1, Seite 94).

Zur Sicherung der Funktionalität des Tests wurden, wie auf der Packungsbeilage des Tests gefordert, Raumtemperaturen zwischen + 15 °C und + 30 °C eingehalten. Alle verwendeten Reagenzien wiesen Temperaturen zwischen + 15 °C und + 25 °C auf. Für jede zu beprobende Stelle wurde die Verpackung eines NAD-Teststreifens zur Wiedererkennung beschriftet, der Teststreifen aus der Folienverpackung entnommen und gemäß Herstellerangaben behandelt.

Die Probenahme erfolgte durch leichtes Andrücken der Testzone des Teststreifens auf die Testfläche und gleichzeitiges Rückwärtsziehen um 30 cm. Dieses Maß wurde je nach Ausmaß der Testoberfläche auf mehrere Teilstrecken aufgeteilt. Beim weiteren Vorgehen nach Herstellerangaben, wurden die Teststreifen gemäß Tabelle 3.2 abgelesen und dokumentiert.

Tabelle 3.2 Bewertungsschema des NAD-Tests modifiziert nach TRAUTSCH (2003)

Verschmutzungsgrad	Kürzel	Nachgewiesenes NAD in fm	Farbveränderung
Sauber	-	0 - 999	Keine
Leichte Verunreinigung	+	1000 - 2499	Rosafärbung
Mittlere Verunreinigung	++	2500 - 9999	Violettärbung
Starke Verunreinigung	+++	10000 - 50000	Blauviolettärbung

3.2.3 Nass-Trocken-Tupferverfahren (NTT)

Das Ziel des NTT-Verfahrens war die Erkennung der Reduktion der aeroben Gesamtkeimzahl (GKZ) auf ausgewählten Oberflächen der Maschine nach künstlicher Kontamination und Reinigung und Desinfektion durch das CIP-System. Dieses Verfahren wurde nach Vorgaben der DIN 10113-1 (Teil 1) von einer einzigen Person durchgeführt. Zur Absicherung der gleichartigen Versuchsdurchführung kam eine Checkliste zur Kontrolle und eine Ergebnisdokumentationsliste zum Einsatz (siehe Anhang Abbildung 8.8, Seiten 99/100). Jeder durchgeführte NTT-Test wurde fortlaufend durchnummeriert. Der NTT-Test wurde an allen 26 Probenahmestellen viermal durchgeführt.

3.2.3.1 Material¹²⁾

Es wurden die gleichen Stellen beprobt wie beim NAD-Test. Zur Kontamination der Probenahmestellen wurde das gleiche **Kontaminationsmedium** wie beim NAD-Schnelltest verwendet (Herstellung siehe Anhang Punkt 8.3, Seite 93). Das Auftragen von 0,1 ml der Kontaminationslösung auf gut zugängliche Oberflächen erfolgte mithilfe kalibrierter Pipetten mit sterilen Pipettenspitzen.

An schlecht zugänglichen Stellen wurde das Kontaminationsmedium anhand einer Sprühflasche homogen auf die zu beprobenden Stellen der Maschine aufgetragen. Dies war der Fall an Probenahmestelle 25 (Kette) und 26 (Abföhrband).

Die Zubereitung der **Verdünnungslösung** für die Probenahme sowie die des **Plate-Count-Agars** (PC-Agar) für die Kultivierung der Proben erfolgte nach Herstellerangaben sowie der amtlichen Methode L 06.00-18 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB). Die Verdünnungslösung wurde in sterile Mehrwegreagenzgläser aus Glas, PC-Agar in sterile Petrischalen abgefüllt (Herstellung siehe Anhang Punkt 8.3, Seite 93).

Zur Keimzahlbestimmung wurde für einen Teil der Proben ein **Spiralplater** verwendet.

3.2.3.2 Methoden

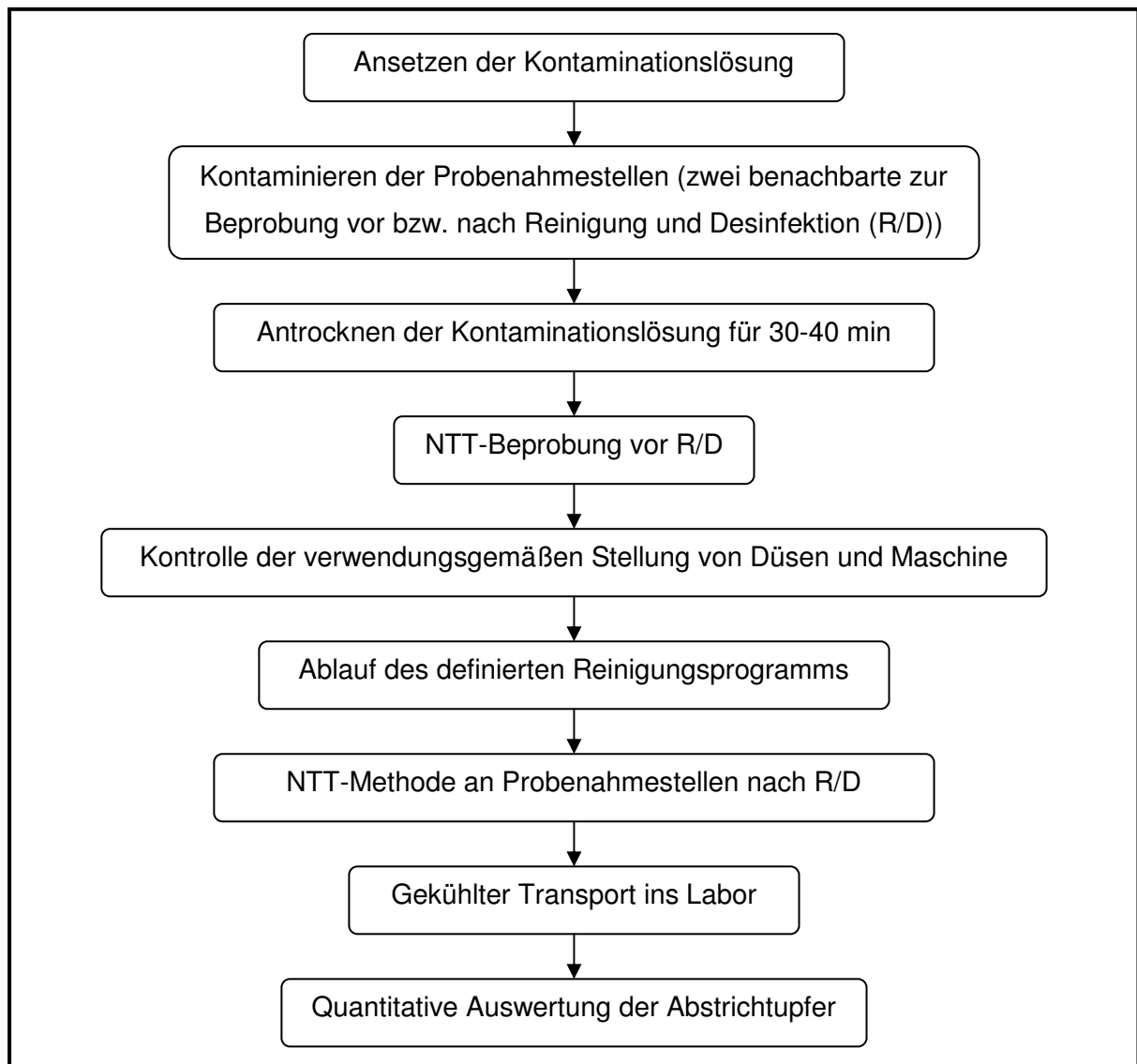
Waren die Oberflächen genügend groß, wurden anhand einer quadratischen Schablone aus Edelstahl mit einer Fläche von 25 cm² zwei benachbarte Stellen abgemessen und mit einem wasser- und alkoholfesten Stift markiert. Die eine der beiden Stellen war jeweils genau diejenige, die im NAD-Test schon beprobt wurde, die zweite wurde nahe daneben auf dem gleichen Oberflächenmaterial in der gleichen Neigung markiert. An den Probenahmestellen 3, 9, 11, 15, 16 und 21 (siehe Tabelle 3.1, Seite 46) war es nicht möglich, zwei 25 cm² große Quadrate abzumessen. In diesen Fällen wurden deshalb anhand eines Lineals rechteckige Flächen mit 25 cm² gekennzeichnet. Stellen wie z. B. Schläuche, die keine ebenen Oberflächen aufwiesen, wurden anhand eines flexiblen Lineals vermessen. Die mit den im NAD-Test identischen Stellen wurden für das NTT nach Reinigung und Desinfektion herangezogen. Die jeweils benachbarte Stelle wurde vor Reinigung und Desinfektion (Probe vor R/D) abgestrichen. Kettenglieder (Probenahmestelle 25) und Stellen des Abföhrbandes (Probenahmestelle 26) wurden auf Grund ihrer unebenen Oberfläche als komplette Einheiten angesehen, die bei jedem Versuch gleichartig beprobt wurden. Zur Probenahme an den Kettengliedern wurden jeweils zwei benachbarte Glieder herangezogen. Ein Glied wurde vor, das andere nach Reinigung und Desinfektion beprobt.

¹²⁾ Materialien mit Herstellerangaben siehe Anhang Punkt 8.2 (Seiten 91/92)

Die Verdünnungsröhrchen zum Probentransport und zur Verdünnung der Probenflüssigkeit sowie die Petrischalen mit PC-Agar wurden vor dem Versuch hergestellt und bei + 4 °C kühl gelagert.

Die Probenahmestellen wurden nach dem Öffnen der Seitenverkleidungen und dem Abnehmen der Schutzabdeckungen mit trockenen Papiertüchern abgewischt und anschließend mit Alkohol entfettet. Dies erfolgte am Tag vor dem Versuch, um jegliche Einflüsse durch Fett oder Alkohol zu verhindern. Der weitere Ablauf ist in Abbildung 3.6 schematisch dargestellt:

Abbildung 3.6 Flussdiagramm zum Ablauf des Nass-Trocken-Tupferprüfverfahrens (NTT)

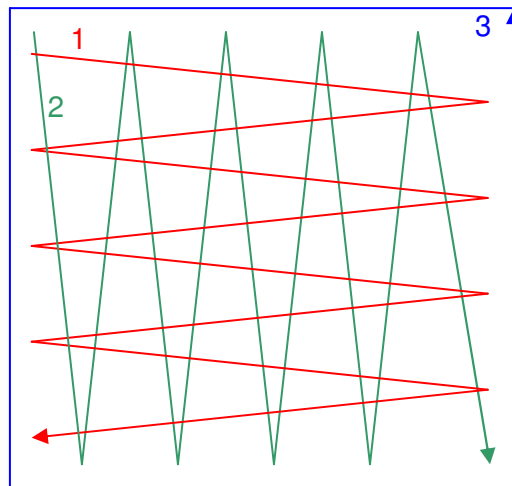


Nach Herstellung des Kontaminationsmediums wurden je 0,1 ml davon mit der Pipette aufgetragen und mithilfe eines sterilen Metallspatels homogen auf die markierten Bereiche verteilt, so dass ein sichtbarer Belag zu erkennen war. Jede der jeweils benachbarten Probe-

nahmestellen wurde kontaminiert. Daraufhin wurde abgewartet, bis das Medium vollständig angetrocknet war. Hierfür war eine Dauer von 30 bis 40 Minuten notwendig.

Nach dem Antrocknen wurde die eine der beiden benachbarten Stellen als Vergleichsprobe vor Reinigung und Desinfektion beprobt. Dies lief, wie in DIN 10113-1 (Teil 1) beschrieben, folgendermaßen ab: Ein steriler Tupfer wurde mit steriler Verdünnungslösung angefeuchtet, so dass er leicht quoll, aber nicht tropfte. Der Tupfer wurde ca. 2 cm von seinem Ende her gefasst und damit die Fläche in einem Winkel von ca. 45° unter gleichzeitiger leichter Rotation in zwei Richtungen mäanderförmig abgestrichen. Anschließend wurde der Tupfer an den Rändern der kontaminierten Fläche unter kreisförmigen Bewegungen entlang geführt. Die Tupferführung auf den Probenahmefflächen stellt Abbildung 3.7 schematisch dar (Abfolge nach folgender Nummerierung):

Abbildung 3.7 Tupferführung auf den Probenahmefflächen im NTT-Verfahren

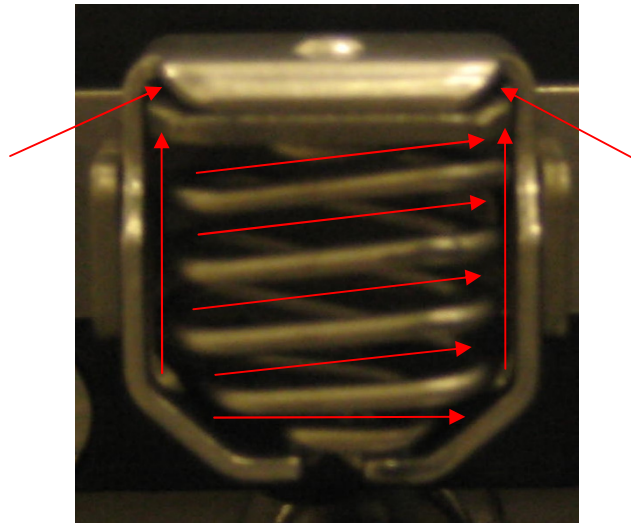


Danach wurde ein trockener steriler Tupfer in gleicher Weise über dieselbe Oberfläche geführt. Beide Tupferköpfe wurden unter sterilen Kautelen in ein Reagenzglas mit 10 ml Verdünnungslösung überführt. Das Reagenzglas wurde anschließend steril verschlossen und in einer tragbaren Kühlbox bei Temperaturen zwischen 0 und + 5 °C gelagert bis alle Proben genommen waren.

Kettenglieder der Maschine wurden mit einer Sprühflasche stets aus der gleichen Richtung und mit gleicher Hubstärke besprüht. Die Tupferprobenahme erfolgte nach dem in Abbildung 3.8 aufgezeichneten Schema. Die Tupferführung ist durch Pfeile angedeutet.

Abbildung 3.8 Foto eines Kettenglieds

(Probenahmestelle 25; Tupferführung durch Pfeile dargestellt)



Auch die Probenahmestelle 26 (Abführband) wurde auf Grund der unebenen Oberfläche immer gleichartig und aus der gleichen Richtung mit Kontaminationsmedium besprüht. Die Probenahme erfolgte jeweils mit den Tupfern, indem auf einem quadratischen Feld von 25 cm² alle Erhöhungen und Vertiefungen abgetupft wurden.

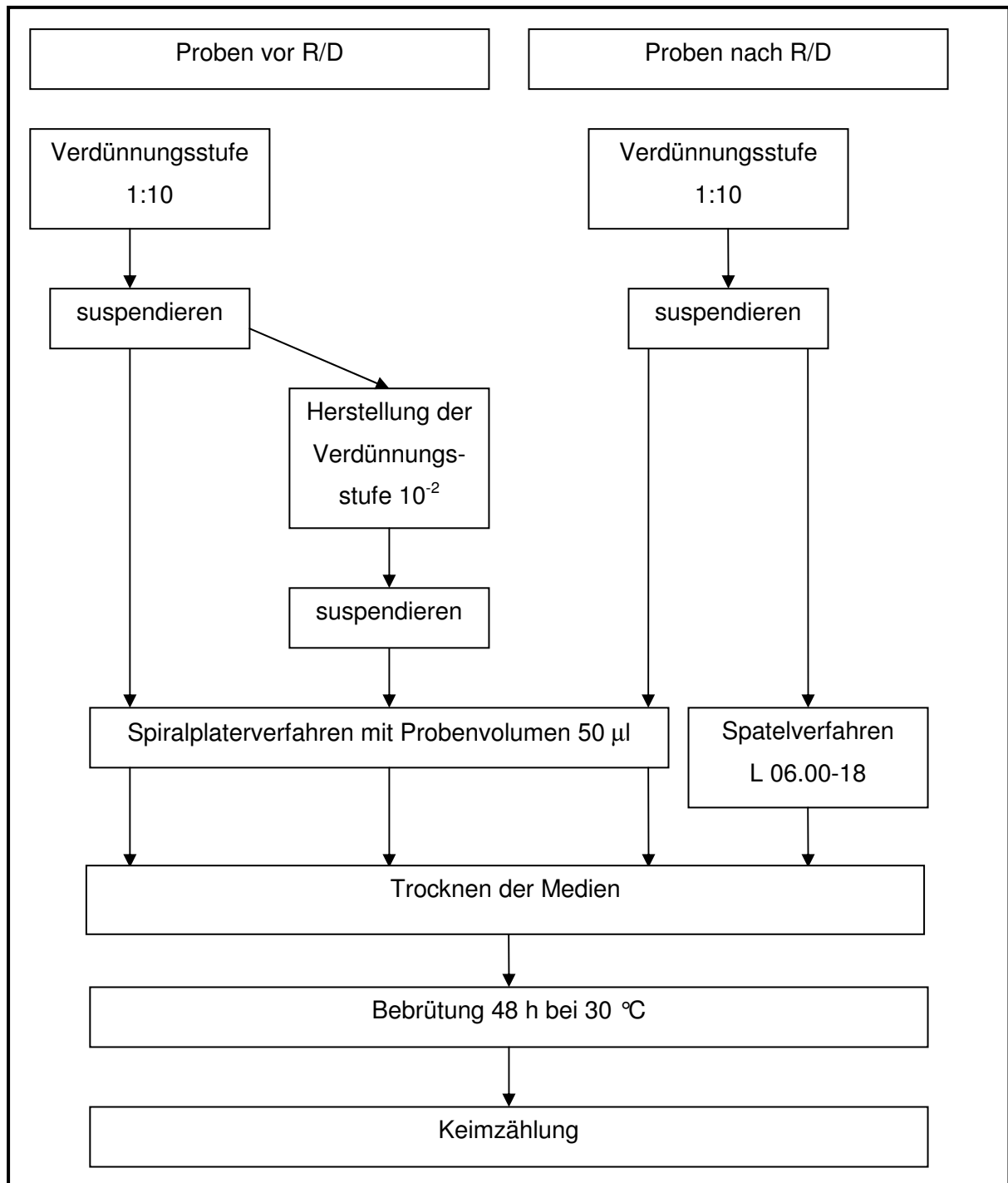
Nach der Kontrolle der Düsen wurden die Schutzabdeckungen aufgelegt und die Seitenverkleidungen geschlossen. Anschließend wurde das empfohlene Reinigungsprogramm mit alkalischem Reinigungsmittel und Desinfektion gestartet (Programm siehe Tabelle 8.1, Seite 94).

Nach Beendigung des Reinigungs- und Desinfektionsprogramms wurden die jeweiligen Stellen beprobt. Die für die Probenahme nach Reinigung und Desinfektion markierten Stellen wurden gleichartig wie diejenigen vor Reinigung und Desinfektion abgestrichen, in Verdünnungsröhrchen überführt und kühl gelagert (Proben nach R/D).

Alle Tupfer wurden anschließend unverzüglich gekühlt ins Labor befördert und weiterverarbeitet. Laut DIN 10113-1 soll der Proben transport bei Temperaturen zwischen 0 °C und + 5 °C erfolgen und nicht länger dauern als 24 Stunden. In der vorliegenden Studie wurde sichergestellt, dass der Transport weniger als zwei Stunden dauerte und Temperaturen in der Transportbox + 5 °C nicht überschritten. Die Arbeitsschritte im Labor erfolgten nach den Vorgaben der Prüfanweisungen im akkreditierten Labor in Anlehnung an die amtliche Methode L 06.00-18 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 des LFGB.

In Abbildung 3.9 wird die Weiterbearbeitung der Proben schematisch dargestellt:

Abbildung 3.9 Weiterverarbeitung der Proben im Labor



Die Tupferköpfe in den Reagenzgläsern mit Verdünnungslösung wurden im Labor für 30 s in einem Reagenzglasschüttelgerät ausgeschüttelt. Dabei wurde das Gerät so eingestellt, dass die Glaswand des Reagenzglases bis ungefähr 1 cm unterhalb des Verschlusses gleichmäßig benetzt wurde.

Die Proben nach R/D, bei denen mit einer geringen Keimzahl zu rechnen war, wurden in der 1:10-Verdünnung im Spatelverfahren nach amtlicher Methode L 06.00-18 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB auf PC-Nährböden ausgestrichen.

Dabei wurde je eine Platte des PC-Mediums mit 0,1 ml und je zwei Platten mit jeweils 0,5 ml der 1:10-Verdünnungsstufe beimpft.

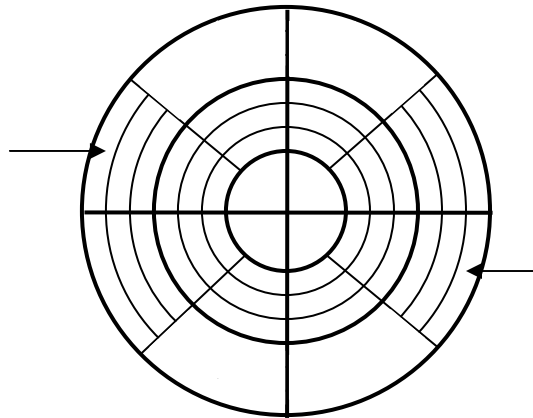
Aus den Proben vor R/D, bei denen höhere Keimzahlen erwartet wurden und die deshalb mit einer höheren Zahl dekadischer Verdünnungsstufen bearbeitet wurden, um klar voneinander abgesetzte Kolonien in zählbarer Menge zu erhalten, wurden neben den 1:10-Verdünnungen zusätzlich 10^{-2} -Verdünnungen hergestellt. Dabei wurde mit sterilen Gerätschaften aus den Reagenzgläsern mit der 1:10-Verdünnung jeweils 1 Teil entnommen und mit 9 Teilen Verdünnungslösung homogen vermischt.

Alle Proben (Verdünnungsstufe 1:10 und $1:10^{-2}$ der Proben vor R/D, Verdünnungsstufe 1:10 der Proben nach R/D) wurden im Spiralplater-Verfahren auf PC-Medium überführt. Das Prinzip dieses Gerätes ist, ein bekanntes Probenvolumen, in diesem Fall 50 µl, auf rotierende Agarplatten in Spiralen aufzubringen. Das Probenvolumen, das pro Einheitsbereich aufgetragen wird, nimmt im Verlauf der Spirale stetig ab, so dass es zu einem definierten Verdünnungseffekt kommt. Daher ist nach der Bebrütung das Auszählen isolierter Kolonien in den entsprechenden Sektoren bekannter Ausgabevolumina möglich.

Nach dem Trocknen aller beimpften Agarplatten wurden diese – wie in der Prüfanweisung des akkreditierten Labors vorgeschrieben – 48 Stunden bei + 30 °C im Brutschrank inkubiert.

Nach der Inkubation wurden die im Spiralplater beimpften Platten mittels einer Schablone zum Auszählen ausgewertet. Jeder auf der Schablone markierte Bereich umfasste ein bekanntes konstantes Probenvolumen. Zur Bestimmung der Keimzahl wurden nach Herstellerangaben zwei gegenüberliegende Segmente, die zusammen mindestens 20 Kolonie bildende Einheiten enthielten, ausgezählt (Beispiel siehe Abbildung 3.10).

Abbildung 3.10 Schablone zum Auszählen der Kolonien beim Spiralplattverfahren (Pfeile als Beispiele für einander gegenüberliegende Segmente zum Auszählen)



Die so ermittelte Zahl wurde durch die Volumenkonstante des entsprechenden Bereichs dividiert und das Ergebnis in Kolonie bildende Einheiten (KbE) pro 25 cm² bzw. bei unebenen Flächen in KbE pro beprobter Fläche umgerechnet. Die durch das Spatelverfahren beimpften Medien wurden gemäß Vorgaben der amtlichen Methode L 06.00-18 der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB im gewichteten Mittelwert ausgezählt und die Ergebnisse dokumentiert.

Durch Subtraktion der zuvor logarithmierten Meßwerte der Proben vor und nach R/D ließ sich die Keimzahlreduktion errechnen. Außerdem wurden für jede Probenahmestelle einzeln sowie für alle Stellen zusammen der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung berechnet. Die Berechnung erfolge nach folgenden Formeln:

$$\text{arithmetischer Mittelwert } \bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n}$$

$$\text{Standardabweichung } \sigma = \sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (x_2 - \bar{x})^2 + \dots + (x_n - \bar{x})^2}{n}}$$

x = Keimzahlreduktion

n = Anzahl der Einzelwerte

4 Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit wurde die Effektivität eines offenen CIP-Systems in einer Tiefziehverpackungsmaschine für Lebensmittel anhand der drei standardisierten Verfahren Riboflavintest, NAD-Schnelltest und dem Nass-Trocken-Tupfverfahren überprüft.

Dazu wurden an den in der Maschine befindlichen Düsen die Wasserdrücke und die ausgeworfenen Wassermengen ermittelt. Zu Beginn aller Untersuchungen betrug der Wasserdruck am Eingang in die Versorgungseinheit jeweils 5,1 bar, an deren Ausgang nach der Zwischenschaltung einer Druckerhöhungspumpe 6,4 bar. Diese Drücke zeigten während allen Versuchsdurchgängen keine Schwankungen auf.

Die Wasserdrücke und die Wasserdurchflussmengen an den jeweiligen Düsen sowie deren arithmetische Mittelwerte sind in Tabelle 4.1 aufgelistet. Da beide Werte nur geringgradig variierten, wurde davon ausgegangen, dass die Reproduzierbarkeit der Testergebnisse durch Wasserdruck und Durchflussmengen an den Düsen auf vernachlässigbare Weise beeinflusst wurde.

Tabelle 4.1 Drücke, Wasserdurchflussmengen und deren arithmetische Mittelwerte an den verschiedenen Reinigungsdüsen der Maschine bei Wasserdurchfluss

Düse (Bezeichnung nach Abbildung 3.3, Seite 41)	Wasserdruck (bar)	Wasserdurchflussmengen (l/20 s)					Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der einzelnen Wasserdurchflussmengen (n = 5) in l/20 s
F1	0,70	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80
F2	0,80	2,80	2,90	2,80	2,90	2,80	2,84
F3	0,90	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10
F4	0,80	2,90	2,90	3,00	2,90	2,90	2,92
F5	0,70	2,95	3,50	2,95	3,00	3,00	3,08
F6	0,80	2,90	3,00	2,90	3,00	2,90	2,94
E1	0,80	3,20	3,25	3,25	3,25	3,25	3,24
E2	0,95	3,00	2,80	3,00	3,00	2,90	2,94
E3	0,85	3,15	3,15	3,00	3,15	3,15	3,12
E4	0,90	3,00	2,95	2,90	3,00	2,90	2,95
E5	0,80	3,00	2,90	2,90	2,90	2,90	2,92
E6	0,90	3,10	3,00	3,05	3,00	3,10	3,05
S1	0,80	2,85	3,00	3,00	3,00	2,90	2,95
S2	0,70	3,00	2,95	3,00	3,00	3,00	2,99
S3	0,65	3,15	3,00	3,00	3,10	3,00	3,05
S4	0,65	3,20	3,10	3,00	3,10	3,10	3,10
S5	0,60	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
S6	0,70	3,00	3,00	2,90	3,00	3,00	2,98
Sch1	1,30	4,30	4,40	4,30	4,30	4,30	4,32
Sch2	1,30	4,40	4,40	4,30	4,40	4,40	4,38
Sch3	1,30	4,20	4,20	4,30	4,30	4,30	4,26
Sch4	1,30	4,40	4,40	4,30	4,40	4,30	4,36

Anmerkung: Der Wasserdruck war an den einzelnen Düsen der Maschine bei allen fünf Messungen identisch, deshalb befindet sich nur jeweils ein Wert in der Spalte Wasserdruck.

4.1 Riboflavintest

Bei den fünf getrennten Versuchsansätzen für den Riboflavintest zur Überprüfung der vollständigen Reinigbarkeit der Maschine lag die Wassertemperatur jeweils zwischen + 14,0 °C und + 15,5 °C, die Raumtemperatur zwischen + 18,0 °C und + 20,0 °C.

Nach Einsprühen der Maschine mit fluoreszierender Riboflavinlösung und anschließender Spülung mit klarem Leitungswasser für 20 Sekunden war festzustellen, dass beim Großteil aller Oberflächen im Maschineninnenraum keine visuell erfassbare Fluoreszenz festzustellen war. Auf waagrechten Flächen, auf denen Flüssigkeit nicht ablaufen konnte, zeigte sich auf Grund der Vermischung von Wasser mit Riboflavinlösung eine leichte Fluoreszenz. In Bereichen im Sprüschatten der Düsen, die nicht vom Spülwasser erreicht wurden, in Bohrlöchern und Schraubenköpfen der Maschine und an neben- und übereinander verlaufenden Kabeln und Schläuchen waren fluoreszierende Flüssigkeitsansammlungen zu finden, wie die Abbildungen 4.1 bis 4.5 deutlich veranschaulichen.

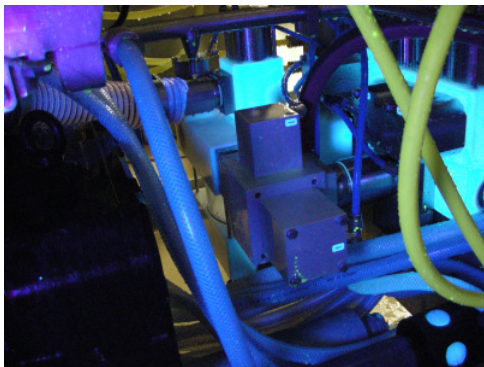


Abbildung 4.1 Komplet von Riboflavinlösung befreite Maschinenteile

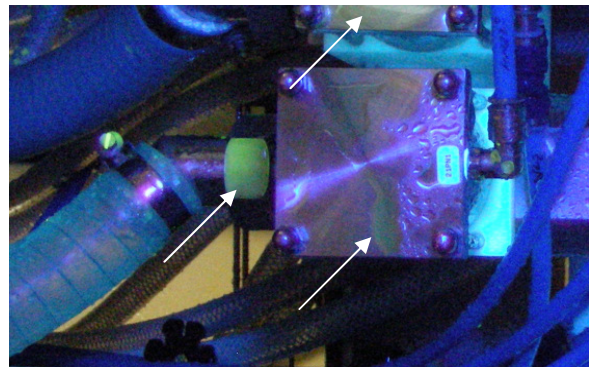


Abbildung 4.2 Reste der Riboflavinlösung auf unvollständig abgespülten waagrechten Flächen

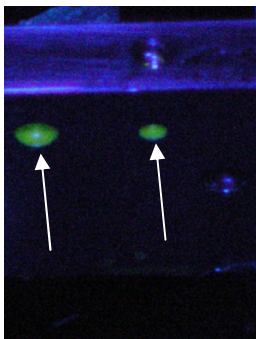


Abbildung 4.3 Nicht abgespülte Riboflavinlösung in Bohrlöchern

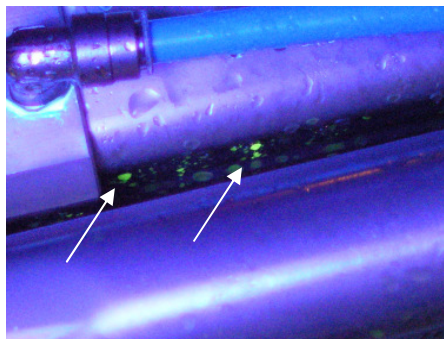


Abbildung 4.4 Unvollständig abgespülte Riboflavinlösung im Sprüschatten der Düsen in der Waschzone Formen

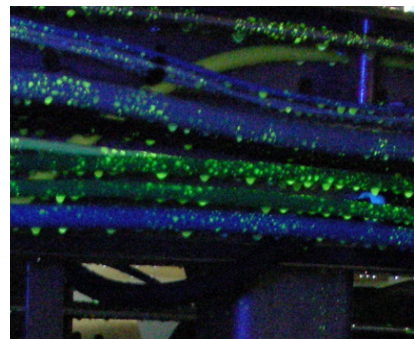


Abbildung 4.5 Riboflavinlösungsreste im Bereich von Schlauchbündeln

4.2 NAD-Schnelltest

Aus der fünfmaligen Versuchsdurchführung an allen 26 Probenahmestellen (siehe Tabelle 3.1, Seite 46) resultierten 130 Einzelergebnisse. Die Temperaturen im Versuchsraum lagen während der Versuche wie vom Hersteller empfohlen zwischen + 18,0 °C und + 18,5 °C, die Temperaturen des Reinigungswassers zwischen + 8,0 °C und + 11,0 °C.

Tabelle 4.2 fasst die Ergebnisse dieses Tests nach dem in Tabelle 3.2 (Seite 48) angegebenen Schema zusammen.

Tabelle 4.2 Ergebnisse des NAD-Schnelltests

Probenahmestelle ¹³⁾	Versuch 1	Versuch 2	Versuch 3	Versuch 4	Versuch 5
1	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-
3	-	+	+	-	-
4	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	+	-
7	+	++	++	++	+
8	+	+	+	+	+
9	-	-	-	+	-
10	-	+	+	-	-
11	-	-	-	-	+
12	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-
14	+	++	++	++	+
15	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	+
18	-	-	-	-	-
19	-	-	-	+	-
20	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
22	+	-	+	-	-
23	-	-	-	-	-
24	+	+	++	+	+
25	-	-	-	-	-
26	-	-	-	-	-
Raumtemperatur [°C]	+ 18,5	+ 18,5	+ 18,5	+ 18,0	+ 18,5
Wassertemperatur [°C]	+ 9,0	+ 8,0	+ 9,5	+ 9,0	+ 11,0

- = sauber, + = leichte, ++ = mittlere, +++ = starke Verunreinigung; Bewertungskürzel siehe auch Tabelle 3.2 (Seite 48)

¹³⁾ Probenahmestellen siehe Tabelle 3.1 (Seite 46)

Wie aus dieser Tabelle klar hervorgeht, war der größte Teil der untersuchten Stellen nach allen Reinigungs- und Desinfektionsdurchgängen als sauber zu bewerten. Nur einige Probenahmestellen zeigten mittelgradige bzw. leichte Verschmutzungen. An wenigen Flächen (Probenahmestellen 7, 8, 14 und 24) waren bei allen Untersuchungen in gering- bis mittelgradigem Maß schlechte Reinigungsergebnisse zu erkennen. An anderen Probenahmestellen, die überwiegend als gut gereinigt notiert wurden, zeigten sich in einer oder zwei Messungen geringgradige Verunreinigungsreste (Probenahmestellen 3, 6, 9, 10, 11, 17, 19 und 22).

4.2.1 Reinigungs- und Desinfektionsergebnisse in Bezug zur Oberflächenneigung

In Tabelle 4.3 wurde der Verunreinigungsgrad der jeweiligen Probenahmestellen ins Verhältnis zur Neigung der beprobten Oberfläche gesetzt und als absolute Zahlen und in Prozent wiedergegeben. Die Ergebnisse an den Kettengliedern und am Abführband wurden dabei nicht berücksichtigt, da deren Oberflächenausrichtung veränderlich ist. Deshalb wurden in dieser Tabelle nur 120 statt 130 Einzelergebnisse erfasst.

Tabelle 4.3 Ergebnisse des NAD-Schnelltests geordnet nach Oberflächenneigung (n = Anzahl der Ergebnisse)

Verunreinigungsgrad	Oberflächenneigung							
	waagrecht		senkrecht		rund		geringgradig geneigt	
	n	%	n	%	n	%	n	%
- (sauber)	20	80,0	35	58,3	15	100	19	95,0
+ (leichte Verunreinigung)	5	20,0	18	30,0	0	0,0	1	5,0
++ (mittlere Verunreinigung)	0	0,0	7	11,7	0	0,0	0	0,0
+++ (starke Verunreinigung)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
gesamt	25	100,0	60	100,0	15	100,0	20	100,0

Während auf den runden Oberflächen bei allen durchgeführten Versuchen nach Reinigung und Desinfektion keine Verunreinigungen mittels NAD-Test detektiert wurden, wurden auf

den waagrechten und leicht geneigten Flächen bei fünf bzw. einer Messung/en leichte Verunreinigungen nachgewiesen, wohingegen auf den senkrecht ausgerichteten Oberflächen leicht- und mittelgradig verschmutzte Stellen in höherem Maße auftraten. Hier wurden bei 60 Versuchsergebnissen in 25 Fällen leichte bzw. mittlere Verunreinigungen vermerkt (41,7 %).

4.2.2 Reinigungs- und Desinfektionsergebnisse in Bezug zum Oberflächenmaterial

In Tabelle 4.4 wurden die Ergebnisse der Sauberkeitsüberprüfung im Hinblick auf die Oberflächenbeschaffenheit ausgewertet und in absoluten Zahlen sowie in Prozentangaben wiedergegeben. Die Materialien Polyoxymethylen, Silikon, PVC und Polypropylen wurden dabei zu „Kunststoff“ zusammengefasst. In dieser Zusammenstellung wurden alle 130 Einzelergebnisse berücksichtigt.

Tabelle 4.4 Ergebnisse des NAD-Schnelltests geordnet nach Oberflächenmaterial (n = Anzahl der Ergebnisse)

Verunreinigungsgrad	Material der Oberflächen							
	Edelstahl		Aluminium eloxiert		Gusseisen lackiert		Kunststoff	
	n	%	n	%	n	%	n	%
- (sauber)	61	71,8	10	66,7	8	80,0	20	100,0
+ (leichte Verunreinigung)	17	20,0	5	33,3	2	20,0	0	0,0
++ (mittlere Verunreinigung)	7	8,2	0	0,0	0	0,0	0	0,0
+++ (starke Verunreinigung)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
gesamt	85	100,0	15	100,0	10	100,0	20	100,0

Die geprüften Edelstahloberflächen waren nach Reinigung und Desinfektion in 61 von 85 Fällen (71,8 %) sauber gereinigt. 24mal (28,2 %) wurden leichte bis mittlere Verschmutzungen nachgewiesen. Die 15 NAD-Messungen auf den eloxierten Aluminiumoberflächen zeigten fünfmal (33,3 %) leichte Verunreinigungen. Die Teststellen aus lackiertem Gusseisen waren in 8 von 10 Fällen nach dem Reinigungs- und Desinfektionsablauf sauber (80 %) und nur in zwei Fällen geringgradig verunreinigt. Einzig die getesteten Kunststoffoberflächen

zeigten in allen Reinigungsdurchläufen keine Verunreinigungen (100 %). Kunststoff- und lackierte gusseiserne Oberflächen zeigten hier also das geringste Risiko organischer Rückstände.

4.3 Nass-Trocken-Tupferverfahren

Diese Untersuchungsmethode zur Ermittlung der Reduktion der aeroben Gesamtkeimzahl wurde an allen 26 ausgewählten Stellen der Maschine jeweils viermal vor und nach Reinigung und Desinfektion durchgeführt. Somit ergaben sich aus insgesamt 208 Einzelergebnissen 104 Ergebnispaare.

In Tabelle 4.5 sind die Ergebnisse der Untersuchungen vor und nach Reinigung und Desinfektion an den 26 Probenahmestellen der vier Testdurchläufe aufgelistet. Die Ergebnisse von Probenahmestelle 1 bis 24 beziehen sich jeweils auf 25 cm², die der Probenahmestelle 25 auf ein immer gleichartig beprobtes Kettenglied und die der Probenahmestelle 26 auf einen immer gleichartig beprobten Abschnitt des Abführbandes der Maschine.

Ergebnisse

Tabelle 4.5 Ergebnisse des NTT-Verfahrens vor und nach Reinigung und Desinfektion (aerobe Gesamtkeimzahl in KbE pro 25 cm²)

Probenahmestelle ¹⁴⁾	Versuch 1		Versuch 2		Versuch 3		Versuch 4	
	vor R/D	nach R/D	vor R/D	nach R/D	vor R/D	nach R/D	vor R/D	nach R/D
1	8,0 x 10 ⁴	2,6 x 10 ²	2,8 x 10 ⁴	8,7 x 10 ²	1,4 x 10 ⁵	9,0 x 10 ¹	1,6 x 10 ⁵	7,0 x 10 ¹
2	2,4 x 10 ⁴	9,0 x 10 ²	2,8 x 10 ⁴	3,5 x 10 ²	7,3 x 10 ⁴	1,0 x 10 ¹	1,0 x 10 ⁵	4,0 x 10 ¹
3	4,0 x 10 ⁴	3,0 x 10 ¹	2,7 x 10 ⁴	5,2 x 10 ²	2,4 x 10 ⁴	1,3 x 10 ²	3,8 x 10 ⁴	1,3 x 10 ²
4	1,5 x 10 ⁵	8,6 x 10 ²	6,4 x 10 ⁴	8,0 x 10 ¹	6,4 x 10 ⁴	1,0 x 10 ¹	3,2 x 10 ⁴	2,0 x 10 ¹
5	1,5 x 10 ⁵	1,0 x 10 ¹	8,2 x 10 ⁴	1,0 x 10 ¹	1,1 x 10 ⁵	< 1,0 x 10 ¹	1,3 x 10 ⁵	1,0 x 10 ¹
6	1,5 x 10 ⁵	2,0 x 10 ¹	7,0 x 10 ⁴	1,0 x 10 ¹	5,4 x 10 ⁴	< 1,0 x 10 ¹	1,1 x 10 ⁵	< 1,0 x 10 ¹
7	6,8 x 10 ⁴	1,6 x 10 ³	1,1 x 10 ⁵	3,1 x 10 ²	5,4 x 10 ⁴	1,6 x 10 ²	1,1 x 10 ⁵	< 1,0 x 10 ¹
8	6,4 x 10 ⁴	2,0 x 10 ²	4,4 x 10 ⁴	6,6 x 10 ²	8,4 x 10 ⁴	7,0 x 10 ¹	1,4 x 10 ⁵	4,0 x 10 ²
9	9,8 x 10 ⁴	2,6 x 10 ²	8,0 x 10 ⁴	1,7 x 10 ²	6,4 x 10 ⁴	2,1 x 10 ²	2,4 x 10 ⁵	1,0 x 10 ²
10	1,7 x 10 ⁵	1,0 x 10 ¹	2,6 x 10 ⁴	< 1,0 x 10 ¹	4,6 x 10 ⁴	< 1,0 x 10 ¹	5,0 x 10 ⁴	2,0 x 10 ¹
11	3,1 x 10 ⁴	7,4 x 10 ²	2,8 x 10 ⁴	2,0 x 10 ²	2,8 x 10 ⁴	3,0 x 10 ¹	3,0 x 10 ⁴	1,0 x 10 ¹
12	1,6 x 10 ⁵	4,1 x 10 ³	4,2 x 10 ⁴	1,1 x 10 ³	2,9 x 10 ⁴	9,0 x 10 ¹	4,0 x 10 ⁴	6,5 x 10 ³
13	4,0 x 10 ⁴	2,7 x 10 ²	9,0 x 10 ⁴	8,0 x 10 ¹	6,2 x 10 ⁴	5,4 x 10 ²	1,3 x 10 ⁵	4,0 x 10 ¹
14	2,4 x 10 ⁴	1,2 x 10 ²	6,8 x 10 ⁴	1,5 x 10 ⁵	4,3 x 10 ⁴	5,7 x 10 ⁴	2,8 x 10 ⁴	4,8 x 10 ⁴
15	3,3 x 10 ⁴	< 1,0 x 10 ¹	1,1 x 10 ⁵	1,0 x 10 ¹	2,5 x 10 ⁴	5,0 x 10 ¹	1,2 x 10 ⁵	2,0 x 10 ¹
16	3,4 x 10 ⁵	1,1 x 10 ²	7,9 x 10 ⁵	1,6 x 10 ²	2,9 x 10 ⁵	6,0 x 10 ¹	2,4 x 10 ⁶	1,0 x 10 ²
17	4,6 x 10 ⁴	7,1 x 10 ³	2,5 x 10 ⁴	3,0 x 10 ¹	2,7 x 10 ⁴	8,0 x 10 ¹	5,3 x 10 ⁴	1,3 x 10 ²
18	3,0 x 10 ⁴	2,0 x 10 ¹	2,8 x 10 ⁴	8,1 x 10 ²	2,5 x 10 ⁴	4,0 x 10 ³	7,7 x 10 ⁴	7,1 x 10 ³
19	4,4 x 10 ⁴	1,5 x 10 ³	6,0 x 10 ⁴	6,0 x 10 ¹	3,3 x 10 ⁴	8,6 x 10 ²	3,9 x 10 ⁴	1,1 x 10 ²
20	2,7 x 10 ⁴	1,6 x 10 ²	4,6 x 10 ⁴	4,0 x 10 ¹	4,6 x 10 ⁴	2,1 x 10 ²	8,1 x 10 ⁴	7,0 x 10 ¹
21	2,4 x 10 ⁴	5,8 x 10 ²	4,0 x 10 ⁴	3,0 x 10 ²	7,1 x 10 ⁴	7,8 x 10 ²	2,7 x 10 ⁵	4,8 x 10 ²
22	4,4 x 10 ⁴	2,0 x 10 ¹	5,4 x 10 ⁴	1,2 x 10 ²	1,0 x 10 ⁵	7,0 x 10 ¹	9,4 x 10 ⁴	2,0 x 10 ¹
23	4,2 x 10 ⁴	1,0 x 10 ¹	3,5 x 10 ⁴	1,0 x 10 ¹	8,1 x 10 ⁴	2,0 x 10 ¹	7,1 x 10 ⁴	8,0 x 10 ¹
24	2,6 x 10 ⁴	7,0 x 10 ³	1,2 x 10 ⁵	4,8 x 10 ³	1,1 x 10 ⁵	3,2 x 10 ³	6,7 x 10 ⁴	3,7 x 10 ³
25	7,9 x 10 ⁵	6,2 x 10 ²	1,8 x 10 ⁶	1,1 x 10 ²	1,8 x 10 ⁶	2,9 x 10 ²	7,1 x 10 ⁶	6,0 x 10 ¹
26	6,0 x 10 ⁴	1,0 x 10 ¹	2,5 x 10 ⁶	2,0 x 10 ¹	1,4 x 10 ⁵	< 1,0 x 10 ¹	1,4 x 10 ⁵	4,0 x 10 ¹
Raumtemperatur [°C]	+ 18,5		+ 18,5		+ 18,0		+ 18,5	
Wassertemperatur [°C]	+ 9,0		+ 10,0		+ 9,0		+ 11,0	

¹⁴⁾ Probenahmestellen siehe Tabelle 3.1 (Seite 46)

Alle Gesamtkeimzahlergebnisse vor R/D, ausgenommen der Probenahmestellen 25 und 26 lagen im Bereich zwischen $2,4 \times 10^4$ und $7,9 \times 10^5$ KbE pro 25 cm^2 Oberfläche, die von Probenahmestelle 25 (Kette) zwischen $7,9 \times 10^5$ und $7,1 \times 10^6$ KbE pro 25 cm^2 und die von Probenahmestelle 26 (Abführband) zwischen $6,0 \times 10^4$ und $2,5 \times 10^6$ KbE pro 25 cm^2 . Die Gesamtkeimzahlergebnisse der Proben nach R/D waren bei den Probenahmestellen 1 bis 24 unterhalb der Nachweisgrenze von $1,0 \times 10^1$ bis $1,1 \times 10^5$ KbE pro 25 cm^2 . An Probenahmestelle 25 lagen sie zwischen $6,0 \times 10^1$ und $6,2 \times 10^2$ KbE pro 25 cm^2 , an Probenahmestelle 26 zwischen $< 1,0 \times 10^1$ und $4,0 \times 10^1$ KbE pro 25 cm^2 .

Bei insgesamt 8 Ergebnissen nach R/D wurden Keimzahlen unterhalb der Nachweisgrenze von $1,0 \times 10^1$ KbE pro 25 cm^2 festgestellt. Ein Großteil der Ergebnisse (81) lag im Bereich von $1,0 \times 10^2$ bis $< 1,0 \times 10^3$ KbE pro 25 cm^2 . Insgesamt 15 Werte lagen im Bereich von $1,0 \times 10^3$ bis $< 1,0 \times 10^6$ KbE pro 25 cm^2 , wobei nur für drei Proben Keimzahlen von $1,0 \times 10^4$ KbE pro 25 cm^2 und höher gemessen wurden.

In Tabelle 4.6 sind die Ergebnisse der Untersuchungen von vor und nach Reinigung und Desinfektion anhand der Keimzahlreduktionen (lg) an den 26 Probenahmestellen sowie deren arithmetische Mittelwerte \bar{x} und die Standardabweichungen σ errechnet.

Tabelle 4.6 Keimzahlreduktion (lg) aus Ergebnissen des NTT-Verfahrens vor und nach R/D und daraus errechnete arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen (KbE pro 25 cm²)

Probe- nah- mestel- le ¹⁵⁾	Keim- zahlre- duktion Versuch 1	Keim- zahlre- duktion Versuch 2	Keim- zahlre- duktion Versuch 3	Keim- zahlre- duktion Versuch 4	arithmetischer Mittelwert \bar{x} der Keimzahl- reduktionswer- te (n = 4)	Standardab- weichung σ der Keim- zahlredukti- onswerte
1	2,5	1,5	3,2	3,4	2,7	0,7
2	1,4	1,9	3,9	3,4	2,7	1,0
3	3,1	1,7	2,3	2,5	2,4	0,5
4	2,2	2,9	3,8	3,2	3,0	0,6
5	4,2	3,9	4,0	4,1	4,1	0,1
6	3,9	3,8	3,7	4,0	3,9	0,1
7	1,6	2,6	2,5	4,0	2,7	0,9
8	2,5	1,8	3,1	2,5	2,5	0,5
9	2,6	2,7	2,5	3,4	2,8	0,4
10	4,2	3,4	3,7	3,4	3,7	0,3
11	1,6	2,1	3,0	3,5	2,6	0,7
12	1,6	1,6	2,5	0,8	1,6	0,6
13	2,2	3,1	2,1	3,5	2,7	0,6
14	2,3	-0,3	-0,1	-0,2	0,4	1,1
15	3,5	4,0	2,7	3,8	3,5	0,5
16	3,5	3,7	3,7	4,4	3,8	0,3
17	0,8	2,9	2,5	2,6	2,2	0,8
18	3,2	1,5	0,8	1,0	1,6	0,9
19	1,5	3,0	1,6	2,5	2,2	0,6
20	2,2	3,1	2,3	3,1	2,7	0,4
21	1,6	2,1	2,0	2,8	2,1	0,4
22	3,3	2,7	3,2	3,7	3,2	0,4
23	3,6	3,5	3,6	2,9	3,4	0,3
24	1,6	1,4	1,5	1,3	1,5	0,1
25	3,1	4,2	3,8	5,1	4,1	0,7
26	3,8	5,1	4,1	3,5	4,1	0,6

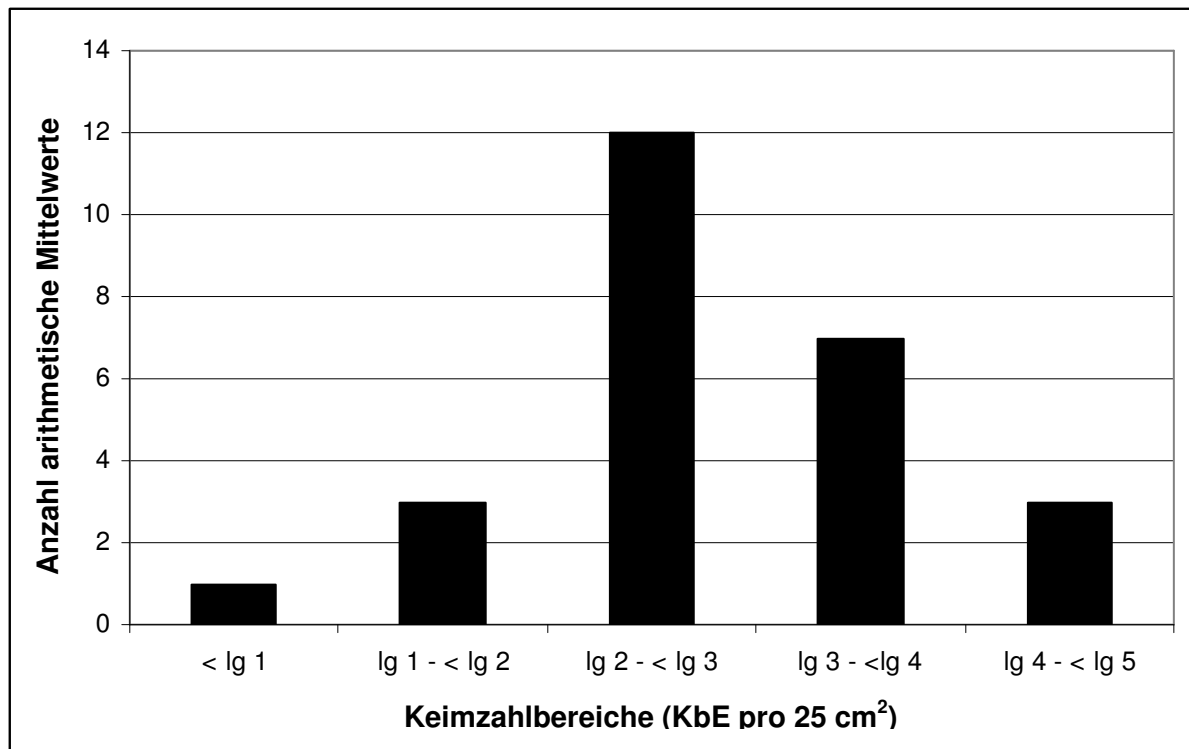
¹⁵⁾ Probenahmestellen siehe Tabelle 3.1 (Seite 46)

Die Keimzahlreduktion an allen Probenahmestellen lag mit Ausnahme von Position 14 zwischen $\lg 0,8$ und $\lg 5,1$ KbE pro 25 cm^2 , die arithmetischen Mittelwerte lagen zwischen $\lg 1,5$ und $\lg 4,1$ KbE pro 25 cm^2 .

Für Probenahmestelle 14 (Innenseite Maschinenfuß) wies die Besonderheit auf, dass die Keimzahlen vor Reinigung und Desinfektion in 3 von 4 Versuchen niedriger lagen als danach. Der arithmetische Mittelwert lag an dieser Stelle bei $\lg 0,4$ KbE pro 25 cm^2 . Ein Gesamtmittelwert von $\lg 2,8$ KbE pro 25 cm^2 wurde für alle Versuchsdurchläufe und alle Probenahmestellen zusammen errechnet. Die Gesamtstandardabweichung lag bei $\lg 1,1$ KbE pro 25 cm^2 .

Abbildung 4.6 stellt die 26 arithmetischen Mittelwerte der Keimzahlreduktion durch Reinigung und Desinfektion gruppiert nach definierten Keimzahlbereichen graphisch dar:

Abbildung 4.6 Ergebnisse des NTT-Verfahrens in verschiedenen Keimzahlbereichen



Bei 4 von 26 Probenahmestellen waren die arithmetischen Mittelwerte der Keimzahlreduktion durch R/D niedriger als $\lg 2$ KbE pro 25 cm^2 . Der größte Anteil (12) aller Mittelwerte lag zwischen $\lg 2$ KbE pro 25 cm^2 und $\lg 3$ KbE pro 25 cm^2 . 7 Mittelwerte erstreckten sich über den Bereich zwischen $\lg 3$ KbE pro 25 cm^2 und $\lg 4$ KbE pro 25 cm^2 und insgesamt 3 Mittelwerte zeigten eine Keimzahlreduktion bis $\lg 5$ KbE pro 25 cm^2 .

4.3.1 Keimzahlreduktion in Bezug zum Oberflächenmaterial

In den Tabellen 4.7 bis 4.10 sind die verschiedenen Oberflächenmaterialien der 26 Probenahmestellen bezüglich des arithmetischen Mittelwerts der Keimzahlreduktion durch R/D miteinander dargestellt.

Tabelle 4.7 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion (KbE pro 25 cm²) durch R/D auf **Edelstahloberflächen**

Probenahmestelle ¹⁶⁾	\bar{x} der Keimzahlreduktion (lg) ¹⁷⁾
1	2,7
2	2,7
4	3,0
6	3,9
7	2,7
8	2,5
9	2,8
13	2,7
14	0,4
17	2,2
18	1,6
19	2,2
20	2,7
21	2,1
23	3,4
24	1,5
25	4,1

¹⁶⁾ Probenahmestellen siehe Tabelle 3.1 (Seite 46)

¹⁷⁾ siehe Tabelle 4.6 (Seite 66)

Tabelle 4.8 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion (KbE pro 25 cm²) durch R/D auf **eloxierten Aluminiumoberflächen**

Probenahmestelle ¹⁸⁾	\bar{x} der Keimzahlreduktion (lg) ¹⁹⁾
3	2,4
11	2,6
22	3,2

Tabelle 4.9 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion (KbE pro 25 cm²) durch R/D auf **Oberflächen aus lackiertem Gusseisen**

Probenahmestelle ²⁰⁾	\bar{x} der Keimzahlreduktion (lg) ²¹⁾
5	4,1
10	3,7

Tabelle 4.10 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion (KbE pro 25 cm²) durch R/D auf **Kunststoffoberflächen**

Probenahmestelle ²²⁾	\bar{x} der Keimzahlreduktion (lg) ²³⁾
12	1,6
15	3,5
16	3,8
26	4,1

Im Vergleich der Tabellen, die die Probenahmestellen aus Edelstahl und Kunststoff listen zeigt sich, dass die Ergebnisse stark variieren. Bei den Ergebnissen von Oberflächen aus eloxiertem Aluminium und aus lackiertem Gusseisen befanden sich die mittleren Keimzahlreduktionen in jeweils ähnlichen Bereichen. Allerdings ist das Ergebnis auf Grund der wenigen Untersuchungsstellen nur bedingt aussagekräftig.

4.3.2 Keimzahlreduktion in Bezug zur Oberflächenneigung

Die Tabellen 4.11 bis 4.14 präsentieren jeweils die arithmetischen Mittelwerte der Keimzahlreduktionen durch R/D hinsichtlich der Oberflächenausrichtung der untersuchten Stellen. Die

^{18), 20), 22)} Probenahmestellen siehe Tabelle 3.1 (Seite 46)
^{19), 21), 23)} siehe Tabelle 4.6 (Seite 66)

Ergebnisse von Probenahmestelle 25 (Kette) und 26 (Abföhrband) werden in den Tabellen auf Grund der veränderlichen Lage der Probenahmestellen nicht beröcksichtigt.

Tabelle 4.11 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion (KbE pro 25 cm²) durch R/D auf **senkrecht stehenden Flächen**

Probenahmestelle ²⁴⁾	\bar{x} der Keimzahlreduktion (lg) ²⁵⁾
2	2,7
4	3,0
6	3,9
7	2,7
8	2,5
10	3,7
14	0,4
17	2,2
18	1,6
19	2,2
23	3,4
24	1,5

Tabelle 4.12 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion (KbE pro 25 cm²) durch R/D auf **waagrechten Flächen**

Probenahmestelle ²⁶⁾	\bar{x} der Keimzahlreduktion (lg) ²⁷⁾
3	2,4
11	2,6
12	1,6
13	2,7
20	2,7
22	3,2

^{24), 26)} Probenahmestellen siehe Tabelle 3.1 (Seite 46)

^{25), 27)} siehe Tabelle 4.6 (Seite 66)

Tabelle 4.13 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion (KbE pro 25 cm²) durch R/D auf **geringgradig geneigten Oberflächen**

Probenahmestelle ²⁸⁾	\bar{x} der Keimzahlreduktion (lg) ²⁹⁾
1	2,7
9	2,8
20	2,7
21	2,1

Tabelle 4.14 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion (KbE pro 25 cm²) durch R/D auf **runden Oberflächen**

Probenahmestelle ³⁰⁾	\bar{x} der Keimzahlreduktion (lg) ³¹⁾
5	4,1
15	3,5
16	3,8

Im Vergleich der Oberflächenausrichtungen wird ersichtlich, dass die arithmetischen Mittelwerte der Keimzahlreduktionen durch R/D der senkrechten Oberflächen bis lg 3,9 KbE pro 25 cm² reichten. Probenahmestelle 14 (Innenseite Maschinenfuß) nahm mit dem arithmetischen Mittelwert von lg 0,4 KbE pro 25 cm² eine exponierte Stellung ein. Bei den geringgradig geneigten Flächen lagen die Mittelwerte in einem eng eingeschränkten Bereich zwischen lg 2,1 KbE pro 25 cm² und lg 2,8 KbE pro 25 cm²; die höchsten arithmetischen Mittelwerte waren bei den runden Oberflächen zu finden (bis lg 4,1 KbE pro 25 cm²).

^{28), 30)} Probenahmestellen siehe Tabelle 3.1 (Seite 46)

^{29), 31)} siehe Tabelle 4.6 (Seite 66)

5 Diskussion

Im medizinischen Bereich sind Prüfungen von Geräten und Maschinen auf Reinigbarkeit zum Ausschluss hygienischer Risiken durch § 3, Abs. 14 des MEDIZINPRODUKTEGESETZES (2002) vorgeschrieben. Derartige Vorschriften sind im Lebensmittelbereich nicht vorhanden. Normen, wie DIN EN ISO 14159 (2008) schlagen Praxistests zur Überprüfung der Reinigbarkeit von Maschinen im Lebensmittelbereich vor, konkrete Vorgaben dazu fehlen bis heute. Der VDMA beispielsweise hat laut BALLEY (2007) auf Grund derartiger Forderungen ein Merkblatt zur Durchführung des Riboflavintests entworfen.

In allen Lebensmittel produzierenden Betrieben zählen Reinigung und Desinfektion – wie von UNTERMANN und DURA (1995), UNTERMANN (2001) und HILDEBRANDT (2004) gefordert – zu den regelmäßig durchzuführenden grundlegenden Hygienemaßnahmen. In der Praxis wird dies allerdings an schwierig zugänglichen Stellen oft vernachlässigt. Zudem ist die manuelle Reinigung stark von der Motivation und Schulung des jeweiligen Reinigungspersonals abhängig. Nicht oder schlecht gereinigte Kontaktflächen oder Bedarfsgegenstände stellen daher häufig Hauptquellen der Kontamination von Lebensmitteln dar (KUMAR und ANAND 1998). Solche Studien sprechen für den Einbau eines automatischen CIP-Systems in eine Maschine wie die getestete Tiefziehverpackungsmaschine.

In der vorliegenden Studie wurde die Effektivität eines CIP-Systems zur Innenraumreinigung einer Tiefziehverpackungsmaschine geprüft. In der Literatur wurde viel über CIP-Reinigung von geschlossenen Rohranlagen geschrieben (DUNSMORE et al. 1981, MATTILA et al. 1990, CHISTI und MOO-YOUNG 1994, GILLHAM et al. 1999, DRESCH et al. 2001, EIDE et al. 2003, BREMER et al. 2006), über die Reinigung von offenen Systemen wie in der geprüften Maschine liegen jedoch wenig Veröffentlichungen vor (LAUFENBERG 1990, HAUSMANN et al. 1996). Das Ziel der Untersuchung war, das Reinigungspotential eines solchen Systems zu bewerten.

Laut KRAMER und SCHUBERT (1998) sowie KRAFT (2008) soll die Validierung eines Reinigungs- und Desinfektionsprozesses Gewissheit darüber bringen, ob unter Einhaltung aller vorgegebenen Parameter die Vermeidung hygienischer Gefahren für den Verbraucher gewährleistet ist.

5.1 Wasserdruck- und Wassermengenmessung an den Düsen

Um eine effektive Reinigungswirkung zu erreichen, muss am Ausgang jeder Düse eines CIP-Systems genügend Wasser mit ausreichendem Druck anstehen. Nach EDELMEYER (1983) können Reinigungs- und Desinfektionsmittel nur dort wirken, wo sie auch hingelangen. Deshalb wurden zu Beginn dieser Studie die ausgeworfenen Wassermengen und die dazugehö-

rigen Drücke erfasst, um eine mögliche Beeinflussung der Testergebnisse durch diese Parameter auszuschließen. Die Wassermengen wurden anhand von auf die Düsen aufgesteckten Schläuchen in Messgefäße abgeleitet. Dabei wurde beachtet, dass die Funktion der Düsen nicht beeinträchtigt wurde. Dieses Verfahren wurde auf Grund der Enge in der Maschine gewählt. Die Auswurfstrecken der Düsen entsprechend der ausgeworfenen Wassermengen sollten demonstrieren, dass auch die am weitesten entfernten Stellen gut benetzt wurden. An den Düsenrohren (Waschzonen Kettenführung und Außenrahmen) konnten Drücke und Wassermengen nicht bestimmt werden, da das Einbauen von Druckmanometern auf Grund der engen Verhältnisse in der Maschine und das Auffangen von Wasser wegen der großen Anzahl an Löchern in den Sprührohren und der schlechten Zugänglichkeit nicht möglich war. Die Wasserdrücke am Eingang in die Versorgungseinheit und an deren Ausgang nach Zwischenschaltung der Druckerhöhungspumpe zeigten während aller Versuchsdurchgänge keine nennenswerten Schwankungen, die die Effektivität der Reinigung beeinträchtigt hätten, sodass davon ausgegangen werden kann, dass die nur geringgradig variierenden Werte zu keiner Beeinflussung der Ergebnisse führen würden. Dies war möglicherweise bedingt durch zu vernachlässigende Schwankungen in der örtlichen Wasserversorgung, sodass eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der verschiedenen Testverfahren gewährleistet war, da externe Faktoren ausgeschlossen werden konnten.

5.2 Auswahl der Prüfmethoden

Als Prüfmethode für die vorliegende Studie wurden ausschließlich Verfahren ausgewählt, die auf Normen basieren, offizielle Gültigkeit besitzen und reproduzierbar sind.

Auf Grund der Vielzahl der benötigten Proben für eine statistische Berechnung der Reinigungseffektivität wurden zur Auswertung aller in dieser Arbeit durchgeführten Tests zur Kostensenkung und bei gleicher Aussagekraft der Ergebnisse Methoden deskriptiver Statistik angewandt (SACHS 2004, KÜCHENHOFF und MAHLING 2007).

Reinigungs- und Desinfektionsmittel sollen laut REUTER (1994) zwingend nach Herstellerangaben angewandt werden, da sie in den empfohlenen Konzentrationsbereichen auf Sicherheit geprüft wurden. Deshalb wurde bei den Versuchen das verwendete Reinigungsmittel Supergel wie in den Dosierempfehlungen angegeben in 3 %iger Konzentration und das Desinfektionsmittel Tego 2000® 1 %ig eingesetzt. Auf Grund ökonomischer und ökologischer Faktoren und der ansteigenden Korrosionsgefahr bei höher dosierten Mitteln (EDELMEYER 1983, SCHUSTER und DETTENKOFER 2007) wurden Konzentrationen im unteren Empfehlungsbereich gewählt.

Zur Benetzung der Oberflächen mit Reinigungs- und Desinfektionsmitteln wurden jeweils 20 Sekunden, zum Abspülen hingegen die doppelte Zeit (40 Sekunden) angesetzt, um der For-

derung von KNAUER-KRAETZL und REUTER (1992), SJÖBERG et al. (1995) und EIDE et al. (2003) nachzukommen, Desinfektionsmittelrückstände auf Oberflächen zu vermeiden.

5.3 Riboflavintest

Die Überprüfung der Reinigbarkeit von Gegenständen und Maschinen anhand von Lösungen mit Riboflavin wurde laut ANTONIOU und CARTER (2006) sowie BALLEY (2007) in der Pharma- sowie in der Lebensmittelindustrie mit variablen Methoden durchgeführt. Ein Merkblatt zur einheitlichen Durchführung wurde 2007 erstellt (MERKBLATT RIBOFLAVINTEST FÜR KEIMARME ODER STERILE VERFAHRENSTECHNIKEN 2007). Allerdings liegen nur wenig publizierte Resultate zu diesem Verfahren vor (BALLEY 2007, HEGNAUER 2007). Der Test erwies sich als routinetauglich für den Lebensmittelbereich, da es sich um ein relativ leicht durchzuführendes und zudem sensibles Verfahren handelt. Ein Vorteil dieses Verfahrens für den Einsatz im Lebensmittelbereich ist die gesundheitliche Unbedenklichkeit für den Lebensmittelkonsumenten bei möglichen Rückständen des Riboflavins auf der Maschine (ANTONIOU und CARTER 2006). Ein Nachteil des Testverfahrens ist, dass Fluoreszenzen des Riboflavins als Indiz für Reinigungsrückstände bei Anwendung der UV-Lampe nur bei kompletter Abdunklung, was in großen Produktionsräumen oft schwer durchführbar ist, sichtbar sind.

Die Lösung soll mittels Sprühflasche auf die zu überprüfenden Oberflächen aufgesprüht werden. Nach dem Ablauf des Spülgangs wird überprüft, an welchen Stellen die unter UV-Licht fluoreszierende Lösung nicht abgespült wurde und somit die Erreichbarkeit durch das Reinigungssystem nicht gewährleistet war. Hydroxyethylcellulose dient laut HEGNAUER (2007) der Erhöhung der Viskosität und zur verlängerten Feuchthaltung der aufgesprühten Lösung. ANTONIOU und CARTER (2006) verwendeten eine Riboflavinlösung unter Zusatz von Ethanol, was laut HEGNAUER (2007) zur leichteren Lösung des Riboflavins in Wasser dient. Der Erreichbarkeitstest galt als bestanden, wenn weder unter normalem Tageslicht, noch unter UV-Licht Riboflavinfluoreszenz erkennbar war (ANTONIOU und CARTER 2007, MERKBLATT RIBOFLAVINTEST 2007).

Laut HEGNAUER (2007) kann anstelle des Riboflavins auch Uranin verwendet werden, was eine schlechtere Lösbarkeit von Oberflächen aufwies. Da feste Haftung aber nicht das Ziel des Tests sei, wird die Riboflavinlösung vorgezogen.

Beim Besprühen der Maschine mit Riboflavinlösung wurde darauf geachtet, dass sich keine zu großen Tropfen auf den zu testenden Oberflächen bildeten, da sich zeigte, dass diese leicht von geneigten Oberflächen abrinnen und somit der Zweck der Riboflavinlösung nicht mehr erfüllt gewesen wäre. Die 1:1000-Verdünnung der Riboflavinlösung zum Testen der UV-Lampe wurde gewählt, damit auch Stellen, an denen die Lösung durch das Spülwasser

nur verdünnt aber nicht vollständig abgespült wurde, ermittelt werden konnten, was vornehmlich auf waagrechten Flächen der Fall war.

Um mögliche Schwachstellen an der Maschine zu eruieren, wurde in der vorliegenden Studie für den Riboflavintest eine Spülzeit von 20 Sekunden angesetzt, da in 20 Sekunden alle erreichbaren Bereiche ausreichend benetzt werden, ein übermäßiges Anfüllen mit Wasser ebenso wie Wasseransammlungen an Stellen, die von den Düsen eigentlich nicht erreicht würden, wird durch die kurze Spülzeit aber vermieden.

Aus Rillen, Schraubenköpfen, Bohrungen und an Schläuchen und Kabeln ließ sich die aufgesprühte Riboflavinlösung nur schwer abspülen und prädestinierte diese Stellen für die Anlagerung von Schmutz und Mikroorganismen sowie für Biofilmbildung als Untergrund (WONG 1998). Insbesondere Listerien nisten sich häufig in derartigen Nischen ein und vermehren sich (TOMPKIN 2002, SCHALCH 2006). Folglich kann es an solch kontaminierten Stellen zu einer Übertragung von Mikroorganismen auf die Lebensmittel kommen, was wiederum eine Infektionsquelle für den Verbraucher darstellt (EDELMEYER 1983, HOLAH und THORPE 1990, REINEMANN et al. 1993, KIRCHER und REUTER 1996, CHMIELEWSKI und FRANK 2003, N.N. 2004).

5.4 NAD-Test

Vor der Auswahl des in dieser Studie durchgeführten Testverfahrens wurde eine Reihe verschiedener Schnellmethoden in Erwägung gezogen. Beim Vergleich des NAD-Tests mit dem Biolumineszenzverfahren und dem Proteintest war laut Literaturangabe davon auszugehen, dass alle drei Methoden Mikroorganismen detektieren und Produktrückstände erfassen können (KIRCHER et al. 1996, POGGEMANN und BAUMGART 1996, GIERSE und BABEL 2002, TRAUTSCH 2003, GOLL et al. 2004).

Das Biolumineszenzverfahren wird durch die Bakterienspecies und deren Vermehrungsphase stark beeinflusst (MOJE und HECHELMANN 1995). Beim in dieser Studie verwendeten Kontaminationsmedium waren diese Parameter nicht bekannt und auch nicht beeinflussbar. Der Einfluss von Art und Struktur untersuchter Oberflächen beim Biolumineszenzverfahren (MOJE und HECHELMANN 1995, ORTH und STEIGERT 1996, POGGEMANN und BAUMGART 1996, HOFBAUER et al. 1997, PURKL 2003) war ein weiterer Faktor, diese Methode in der vorliegenden Arbeit auszuschließen, da hier verschiedene Oberflächenmaterialien miteinander verglichen wurden. Die laut PURKL (2003) hohen Investitions- und laufenden Kosten sprachen ebenso gegen die Anwendung des Biolumineszenzverfahrens.

Obwohl auch beim Protein- und NAD-Test Oberflächeneigenschaften die Ergebnisse beeinflussen (WEBER et al. 1997), ist nach Meinung von TRAUTSCH (2003) der NAD-Test der Sensitivere. Die einfache Handhabung und die Erreichbarkeit von schwer zugänglichen Stel-

len waren Faktoren, die zur Entscheidung für den HY RiSE® Colour Hygiene Test Strip in dieser Studie geführt hatten. Verglichen mit anderen Schnelltests ist dieser Test preisgünstig (1,70 € pro Test) und liefert Ergebnisse in sehr kurzer Zeit (TRAUTSCH 2003).

Nicht unterschieden werden kann in diesem Test, ob ein positiver NAD-Nachweis von Mikroorganismen oder von Schmutzrückständen herrührt. Falsch positive Ergebnisse können sich ergeben, wenn bei der Probenahme die Testzonen der Teststreifen oder die Öffnungen der Fläschchen mit den Reagenzien berührt werden. Dabei können an den Händen anhaftende NAD-haltige Materialien übertragen werden und folglich zu einem positiven Testergebnis führen (TRAUTSCH 2003). Um eine mögliche Beeinflussung der Ergebnisse durch den verwendeten Alkohol auszuschließen, wurden alle Probenahmestellen nicht unmittelbar vor Beginn des Versuchs sondern 24 Stunden vorher mit Alkohol entfettet.

Um gleichmäßige Schichten auf der Oberfläche zu erhalten, war das immer gleichartige Aufbringen des Kontaminationsmediums sehr wichtig. Eine weitestmögliche Standardisierung der Methode wurde dadurch gewährleistet, dass die Versuche von nur einer Person immer in der gleichen Arbeitsweise durchgeführt wurden.

Das vollständige Antrocknen des Kontaminationsmediums auf den Probenahmestellen wurde als sehr wichtig erachtet, um eine Reproduzierbarkeit der Ergebnisse mit identischen Voraussetzungen zu gewährleisten. Zur Vergleichbarkeit der Ergebnisse war auch die Fläche aller beprobten Stellen, mit Ausnahme der Probenahmestellen 25 und 26, mit 25 cm² identisch.

Die Ergebnisse zeigten, dass an manchen Probenahmestellen nach Reinigung und Desinfektion noch Restverschmutzungen vorhanden waren. Dies lag möglicherweise daran, dass die Reinigungs- und Desinfektionslösungen Temperaturen zwischen + 8 °C und + 11 °C aufwiesen. Laut GIESE (1991), GERSTEIN et al. (1993) und KLEINER (1998) besteht bei niedrigen Temperaturen vor allem die Gefahr, dass sich fettige Verschmutzungen nicht lösen und Schmutzpartikel wieder auf Oberflächen angelagert werden können. Schmutzrückstände verringern laut EDELMEYER (1983) die Wirkung von Desinfektionsmitteln bis zur Unwirksamkeit. Dies wäre an Stellen der Fall, die laut NAD-Schnelltest nicht vollständig sauber wurden. Folglich sind diese Stellen prädisponiert für Biofilmbildung (BOWER und DAE-SCHEL 1999).

Im Vergleich der Ergebnisse der senkrechten und waagrechten Oberflächen wiesen senkrechte Stellen nach Reinigung und Desinfektion häufiger Schmutzrückstände auf als waagrechte, was der Beobachtung von EDELMEYER (1983) entspricht. Da allerdings die verglichenen Flächen zum Teil aus verschiedenen Oberflächenmaterialien bestanden, war eine sichere Aussage bezüglich der alleinigen Ursache verbleibender Verunreinigungen nicht möglich.

Auf runden und mäßig geneigten Flächen konnten in 34 von 35 Fällen keine NAD-haltigen Substanzen nachgewiesen werden, was verschiedene Ursachen haben kann: Die beprobten Oberflächen bestanden aus Materialien, die leichter zu reinigen waren als die damit verglichenen senkrechten und waagrechten Flächen. Auf Grund der Form könnte auf den runden und geneigten Flächen Reinigungs- und Desinfektionsmittel länger haften und somit länger einwirken als auf senkrechten Flächen, von denen es schneller abläuft. Im Vergleich zu waagrechten Flächen bieten dagegen die geneigten und runden Oberflächen den Vorteil, dass Schmutzrückstände von diesen leichter abgespült werden.

Der Vergleich der verschiedenen Oberflächenmaterialien ergab, dass auf Edelstahloberflächen der größte Anteil an verunreinigten Stellen zu finden war. Auf Aluminium und lackiertem Gusseisen waren wenige, auf Kunststoff dagegen keine positiven Ergebnisse zu finden. Die Möglichkeit falsch positiver beziehungsweise falsch negativer Ergebnisse kann laut TRAUTSCH (2003) - wie bei jedem Test - allerdings nicht ausgeschlossen werden. Kratzer in Aluminium sind laut KUMAR und ANAND (1998) gewöhnlich breiter und tiefer als in Edelstahl. Je glatter Oberflächen sind, desto einfacher sind sie zu reinigen (HOY 1996). DE QUEIROZ und DAY (2007) stellten fest, dass korrodierte Metalle eine stabilere Anhaftung bewirken als unversehrte. Diese Aussagen wurden durch die eigenen Untersuchungstechniken nicht bestätigt, da die Oberflächen in der Maschine noch sehr neu und deswegen noch nicht verkratzt oder korrodiert waren.

5.5 Nass-Trocken-Tupferverfahren

5.5.1 Auswahl des Verfahrens zur Bestimmung des mikrobiologischen Status

Da eine Differenzierung von abgestorbenen und lebenden Zellen bei den oben genannten Schnellverfahren nicht stattfindet, wurde in dieser Studie zusätzlich das NTT-Verfahren angewendet. Bei der Auswahl eines Verfahrens zur Bestimmung des mikrobiologischen Status von Oberflächen in dieser Studie wurde auf eine Reihe von Faktoren Wert gelegt. Es sollte sich um eine standardisierte Methode handeln, weshalb in erster Linie folgende Verfahren in Erwägung gezogen wurden:

- Nährbodenkontaktverfahren
- Einfaches Tupfverfahren
- Nass-Trockentupfverfahren

Beim Nährbodenkontaktverfahren handelt es sich um einen schnell und ohne großen Laboraufwand durchführbaren und preisgünstigen Test, der aber bei hohen Keimzahlen auf Grund von Rasenwachstum auf dem Kontaktnährboden keine quantitativen Aussagen zulässt

(LOUWERS und KLEIN 1994a, HILLER et al. 1995, PLESS und PLETZ 1995, RÜHLMANN und FELDHOUSEN 1995, SCHULZE und HILDEBRANDT 1995, SCHÖNENBRÜCHER und BÜLTE 2004). Da in der vorliegenden Studie auch die Keimzahlen vor Reinigung und Desinfektion bestimmt werden sollten, kam dieser Test nicht in Frage. Bei den Tupferv Verfahren besteht dagegen die Möglichkeit, dekadische Verdünnungsreihen zur genauen Keimzahlermittlung zu erstellen (SCHULZE und HILDEBRANDT 1995). Auch die Tatsache, dass unebene Gegenstände wie z. B. Schläuche beprobt werden sollten, schloss das Nährbodenkontaktverfahren aus, da dieses Verfahren nach SCHMIDT und BEM (1978) sowie LOUWERS und KLEIN (1994a) dafür wegen noch bestehender Restfeuchte der Probenahmestellen besonders nach Reinigung und Desinfektion ungeeignet ist. Für die Tupferv Verfahren ist dies unproblematisch.

Ebenso sind gewölbte, verwinkelte Oberflächen mit Nährbodenkontaktverfahren schwierig zu beproben (LOUWERS und KLEIN 1994b, TRAUTSCH 2003), die Tupfertechniken hingegen erwiesen sich hier als sehr praktikabel, was besonders auf die Bereiche Kette und Abführband der Maschine zutraf. Auf rauen Oberflächen bieten die Tupferv Verfahren außerdem den Vorteil, dass – im Gegensatz zu Nährbodenkontaktverfahren – auch Rillen, Furchen oder ähnliche schlecht zugängliche Stellen beprobt werden können (LOUWERS und KLEIN 1994b). Allerdings muss generell davon ausgegangen werden, dass die Keimwiederfindungsraten auf rauen Oberflächen geringer sind als die auf glatten (TRAUTSCH 2003). Das NTT-Verfahren zeigt sowohl im Vergleich zu Abklatschverfahren als auch zum Einfachen Tupferv Verfahren die höheren Wiederfindungsraten (RÜHLMANN und FELDHOUSEN 1995, SCHULZE und HILDEBRANDT 1995, BASLER und STOLLE 2000). Auf Grund der Feuchte des Wattetupfers lassen sich beim NTT-Verfahren mehr Mikroorganismen von einer Oberfläche erfassen (KELCH und FRIES 1959, BASLER 2002). PURKL und BÜLTE (2002) empfehlen dieses Verfahren zudem zur Untersuchung von Probenahmestellen, die kleiner als 100 cm² sind.

5.5.2 Kontaminationsmedium

Da außerhalb des Labors wegen Vorgaben durch die BIOSTOFFVERORDNUNG (1999) keine standardisierten Testkeime verwendet werden dürfen, wurde zur Durchführung dieses Versuchs ein aus Lebensmitteln hergestelltes Kontaminationsmedium verwendet. Die Versuchsdurchführung im Labor war nicht möglich, da die Tiefziehverpackungsmaschine zu groß war, um in einem herkömmlichen Labor Platz zu finden.

Das hergestellte Kontaminationsmedium wies im Vergleich zu standardisierten Testkeimen weniger konstante Keimzahlen auf. Da darauf geachtet wurde, dass die Komponenten unter gleich bleibenden Bedingungen gelagert, gemischt und aufgebracht wurden, konnten den-

noch bei den einzelnen Versuchen und an den verschiedenen Probenahme­flächen ähnliche Werte erzielt werden.

Das Kontaminationsmedium sollte schnell antrocknen und gute Haftung und hohe Keimzahlen aufweisen, um eine Keimzahlreduktion zwischen Proben vor und nach Reinigung und Desinfektion zu evaluieren, weshalb Fleischsaft und Rohmilch zur Anwendung kamen. Die Zusammensetzung aus den drei Komponenten Fleischsaft, Rohmilch und Crème fraîche wurde herangezogen, um die Wirkung der Reinigung und Desinfektion auf Proteine, Kohlenhydrate und Fette als Lebensmittelbestandteile zu überprüfen.

Das Aufbringen des Mediums erfolgte – soweit möglich – mithilfe steriler Pipetten und Spatel, um definierte Mengen auf die Oberflächen aufzutragen. Um höhere Keimzahlen in den Proben vor R/D zu erhalten, wäre theoretisch die Anwendung einer größeren Menge des Kontaminationsmediums möglich gewesen. Wegen des Abfließens größerer Mengen besonders auf senkrechten Probenahmestellen war dies in der vorliegenden Studie praktisch nicht durchführbar. Das Testmedium in festerer Konsistenz herzustellen, wäre einerseits möglich gewesen, war jedoch nicht sinnvoll, da es an unebenen Stellen der Maschine (Probenahmestelle 25 und 26) mittels der Sprühflasche ausgebracht werden musste, was natürlich für die gleichmäßige Benetzung der Probenahmestellen einen bestimmten Flüssigkeitsgrad des Mediums voraussetzte.

5.5.3 Bewertung der Ergebnisse

Eine Beurteilung der Ergebnisse wird durch die Verschiedenheit der Materialien der Probenahmestellen, deren Lage im Raum sowie deren Stellung gegenüber den Düsen erschwert. Dies gilt sowohl für den NAD-Test als auch für das NTT und führt nur zu einer eingeschränkten Aussagekraft der Ergebnisse. Beispielsweise waren zwar die Probenahmestellen 2 und 4 jeweils aus Edelstahl und in senkrechter Neigung (siehe Tabelle 3.1, Seite 46), Auftreffwinkel und Düsenabstand waren jedoch verschieden. Zudem wurden verschiedene Probenahmestellen aus unterschiedlich vielen Reinigungsdüsen erreicht, was ebenfalls einen Vergleich der verschiedenen Probenahmestellen beeinträchtigt.

In Bezug auf die Gesamtkeimzahlen lagen bei acht Einzelergebnissen die Werte unterhalb der Nachweisgrenze $1,0 \times 10^1$ KbE pro 25 cm^2 . Methodisch bedingt lag die untere Nachweisgrenze bei $1,0 \times 10^1$ KbE pro 25 cm^2 , da beim angewandten Verfahren zum Ausschüteln der Tupferköpfe eine Verdünnung von 1:10 verwendet wurde.

Die Ergebnisse dieses Tests sollten nach lebensmittelhygienischen Maßstäben bewertet werden. Die in Tabelle 4.6 (Seite 66) errechneten Keimzahlreduktionen geben zwar die tatsächlichen Werte wieder, eine Bewertung anhand dieser Zahlen erwies sich aber als schwierig, da die Ausgangskeimzahlen (GKZ der Proben vor R/D) relativ niedrig waren und somit

höhere Reduktionszahlen als in Tabelle 2.5 (Seite 13) nicht zu erwarten waren. Würde man Werte aus dieser Tabelle zur Bewertung heranziehen, müssten alle Ergebnisse nach R/D unterhalb der Nachweisgrenze liegen, da durch die Desinfektion Reduktionen von 5 lg-Stufen und mehr erwartet wurden. Zur Bewertung werden deshalb die Ergebnisse der Proben nach R/D in absoluten Zahlen herangezogen. Beim Abklatschverfahren liegen die Keimzahlen nach ausreichender Reinigung und Desinfektion im Lebensmittelbereich zwischen 50 und 125 KbE pro 25 cm² (DRESSLER 1997). Beim NTT-Verfahren liegt die Wiederfindungsrate laut DRESSLER (1997) um 1 bis 2 logarithmische Stufen über denen des Abklatschverfahrens, also ungefähr im Bereich von 10³ bis 10⁴ KbE pro 25 cm².

Da einige Ergebnisse des NTT-Verfahrens im Bereich unterhalb der Nachweisgrenze von 1,0 x 10¹ KbE pro 25 cm² lagen, kann davon ausgegangen werden, dass das CIP-System in der Lage ist, zufrieden stellende Reinigungs- und Desinfektionsergebnisse zu erreichen.

Die ENTSCHEIDUNG 2001/471/EG sah vor, Lebensmittelkontaktoberflächen nach Reinigung und Desinfektion mit einer GKZ von 0 - 10 KbE pro cm² als annehmbar und mit einer GKZ > 10 KbE pro cm² als nicht annehmbar zu bewerten. Durch In-Kraft-Treten des EU-Hygienepakets wurde jedoch diese zuvor geltende Gesetzgebung aufgehoben, weshalb für derartige Bewertungen in der geltenden Lebensmittelgesetzgebung keine genauen Vorgaben zu finden sind. Für nicht-produktberührende Bereiche, die im Rahmen der vorliegenden Studie beprobt wurden, gibt es somit keine Richtwerte. In dieser Arbeit wurden deshalb die Vorgaben von ENTSCHEIDUNG 2001/471/EG herangezogen und ein eigenes, daran angelehntes Bewertungsschema entworfen.

Tabelle 5.1 Bewertungsschema zur Beurteilung des R/D-Erfolges bei Einsatz des NTT-Verfahrens

Gesamtkeimzahlbereich in KbE / 25 cm ²	Bewertung
< 10 ¹	sehr gut
1,0 x 10 ¹ - < 1,0 x 10 ²	gut
1,0 x 10 ² - < 1,0 x 10 ³	annehmbar
10 ³ und mehr	schlecht (nicht annehmbar)

Zieht man den Wert aus ENTSCHEIDUNG 2001/471/EG heran und rechnet ihn auf 25 cm² um, kommt man auf eine annehmbare Gesamtkeimzahl auf Oberflächen nach Reinigung und Desinfektion im Bereich von 10² KbE pro 25 cm². Da es sich bei der getesteten Maschine um nicht-produktberührende Oberflächen handelt, wurde der Bewertungsschlüssel für „annehmbar“ auf den kompletten Bereich zwischen 1,0 x 10² und < 1,0 x 10³ KbE pro 25 cm² ausgedehnt. Ergebnisse im Bereich 1,0 x 10³ KbE pro 25 cm² und darüber müssen also kritisch betrachtet werden und sollten Verbesserungen an der Maschine nach sich ziehen. Die Be-

wertungen „sehr gut“ und „gut“ wurden zwecks differenzierterer Abgrenzung der Ergebnisse zusätzlich unterschieden, woraus sich folgende Bewertungsskala (siehe Tabelle 5.2) für die in dieser Studie untersuchten Stellen der Maschine ergibt.

Tabelle 5.2 Bewertung des R/D-Erfolges an den einzelnen Probenahmestellen im NTT-Verfahren

Probenahmestelle ³²⁾	Bewertung der Ergebnisse ³³⁾
1	gut – annehmbar
2	gut – annehmbar
3	gut – annehmbar
4	gut – annehmbar
5	sehr gut – gut
6	sehr gut – gut
7	sehr gut – schlecht
8	gut – annehmbar
9	annehmbar
10	sehr gut – gut
11	gut – annehmbar
12	gut – schlecht
13	gut – annehmbar
14	annehmbar – schlecht
15	sehr gut – gut
16	gut – annehmbar
17	gut – schlecht
18	gut – schlecht
19	gut – schlecht
20	gut – annehmbar
21	annehmbar
22	gut – annehmbar
23	gut
24	schlecht
25	gut – annehmbar
26	sehr gut – gut

³²⁾ Probenahmestellen siehe Tabelle 3.1 (Seite 46)

³³⁾ Bewertungsschema siehe Tabelle 5.1 (Seite 80)

Für die Bereiche „Kettenglied“ (25) und „Abführband“ (26) wurde dasselbe Bewertungsschema verwendet wie bei den übrigen Probenahmestellen. Eine genaue Größenangabe für die Oberfläche dieser Stellen war auf Grund der unebenen und verwinkelten Oberflächen nicht möglich. Die einzelnen Kettenglieder wiesen beim Abmessen der einzelnen Fragmente geschätzt etwa die gleichen Maße wie die der anderen Probenahmestellen auf. Deshalb wurde dasselbe Bewertungsschema für die mikrobiologische Bewertung der Kettenglieder als geeignet erachtet. Die Bewertung der Fragmente des Abführbandes erfolgte wegen ähnlicher GKZ der Proben vor R/D analog zu den Kettengliedern. Ein Abmessen der Oberfläche war hier auf Grund des noch stärker verwinkelten Oberflächenreliefs nicht möglich.

Da das aus verschiedenen Lebensmitteln selbst hergestellte Medium zur Kontamination bezüglich der Keimzahlen nicht bei jedem Versuchsdurchgang identisch war, mussten hier vor allem die einzelnen Ergebnispaaire miteinander verglichen werden. So waren in Versuch 1 des NTT-Verfahrens die GKZ der Proben vor R/D niedriger als bei den Versuchen 2, 3 und 4 (siehe Tabelle 4.5, Seite 64). Um möglichst gleiche Voraussetzungen zu schaffen, erfolgten die Probenahmen vor und nach R/D an den einzelnen Stellen an direkt benachbarten Flächen.

Bei Betrachtung der Einzelergebnisse deuteten höhere Werte darauf hin – unter Einbeziehung der Standardabweichung der Keimzahlreduktionen (Tabelle 4.6, Seite 66) – dass Wasser und Reinigungs- und Desinfektionsmedien nur sehr unsicher an die jeweiligen Stellen gelangten bzw. dass die Stellen mit größerer Wahrscheinlichkeit nur unsauber gereinigt und desinfiziert worden waren.

Beim Vergleich der nach Oberflächenausrichtung geordneten arithmetischen Mittelwerte (Tabellen 4.11 bis 4.14, Seiten 70/71) fiel auf, dass diejenigen der runden und geringgradig geneigten Oberflächen die geringsten GKZ pro 25 cm² aufwiesen. Dies lag möglicherweise daran, dass auf diesen Flächen Reinigungs- und Desinfektionsmittel langsamer ablaufen, andererseits aber generell das Abfließen der Reinigungs- und Desinfektionsmedien sowie des Spülwassers gewährleistet ist. Auch die Ergebnisse der waagrechten Oberflächen waren – mit einer Ausnahme (Probenahmestelle 12) – alle im Toleranzbereich. Die Reinigungs- und Desinfektionsagenzien liefen hier zwar nur schlecht ab, möglicherweise waren sie aber gerade deshalb in der Lage, die Keime auf den Oberflächen effektiv abzutöten. Allerdings besteht die Gefahr der Rekontamination durch abgestorbene Mikroorganismen und abgelösten Schmutz, was somit wieder einen guten Nährboden für andere Mikroorganismen darstellt (CHMIELEWSKI und FRANK 2003).

Auf Oberflächen verbleibende Reinigungs- und Desinfektionsmittel stellen in zweifacher Hinsicht eine Gefahr dar: Zum Einen können sie Lebensmittel kontaminieren und zum Anderen können sie zu Zerstörung von Oberflächen wie Korrosion von Metallen oder Versprödung

von Kunststoffteilen führen. Die Feststellung von GIBSON (1999), dass chemische Effekte mit der Temperatur linear ansteigen, konnte in der vorliegenden Studie nicht überprüft werden, da die Chemikalien ausschließlich in kaltem Zustand auf die Maschine aufgetragen wurden. Somit bleibt die Frage offen, inwieweit höhere bzw. niedrigere Temperaturen beim Ablauf der CIP-Reinigung die Ergebnisse beeinflussen würden. Ebenso bleiben in dieser Studie die Auswirkungen von Änderungen der Reinigungs- bzw. Einwirkzeit, der Konzentration der Reinigungslösungen und anderer Faktoren auf die Ergebnisse unbeantwortet. Um derartige Einflüsse beurteilen zu können, sind weitere Studien an der getesteten Verpackungsmaschine notwendig.

5.6 Bewertung der Aussagekraft der durchgeführten Testverfahren

Der Riboflavintest zeigt die Reinigbarkeit einer definierten Position durch Reinigungswasser (Leitungswasser ohne Reinigungs- oder Desinfektionsagenzien) aus dem CIP-System an (ANTONIOU und CARTER 2006, BALLEY 2007). Findet man nach Durchführung des Spülung anhand der UV-Lampe noch fluoreszierende Flüssigkeit auf Oberflächen, lässt dies die Aussage zu, dass diese Fläche durch das CIP-System nicht gereinigt werden konnte. Andererseits allerdings kann keine Aussage über die Sauberkeit von nicht mehr fluoreszierenden Oberflächen getroffen werden. Da die Riboflavinlösung nur auf Oberflächen aufgesprüht, ein Antrocknen aber nicht abgewartet wurde, ist keine Aussage möglich, ob das System auch zur Entfernung von Schmutz geeignet wäre.

Für den NAD-Test und das Nass-Trocken-Tupfverfahren wurden über den gesamten Innenraum der Tiefziehverpackungsmaschine Probenahmestellen ausgewählt. Dabei wurde darauf geachtet, dass verschiedene Materialien und verschiedene Oberflächenneigungen beprobt wurden.

Bei dem in dieser Studie durchgeführten Nass-Trocken-Tupfverfahren können ausschließlich vermehrungsfähige Bakterien, Hefen und Schimmelpilze nachgewiesen werden. Abgestorbene Organismen und andere NAD-haltige organische Rückstände lassen sich nicht detektieren. Ebenso lässt der NAD-Test eine Differenzierung zwischen vermehrungsfähigen und abgestorbenen Bakterien nicht zu (TRAUTSCH 2003). Ein positives Testergebnis wird bei jeder Art von NAD-haltigem Material angezeigt. Nur eine Kombination von NAD-Test und Nass-Trocken-Tupfverfahren lässt somit eine differenziertere Aussage über die Art des detektierten Materials zu.

5.7 Biofilmproblematik

Nach Ablauf einer CIP-Reinigung sind die Oberflächen in der Maschine nass beziehungsweise feucht. Dies und durch Reinigung und Desinfektion nicht vollständig von Oberflächen entfernte Lebensmittelreste bilden eine ideale Grundlage für die Bildung von Biofilmen (REINEMANN et al. 1993, ZOTTOLA und SASAHARA 1994). Laut BARNES et al. (1999) sowie DE QUEIROZ und DAY (2007) ist für Biofilme eine Oberflächenbesiedelung umso leichter, je rauer die Oberfläche ist. Deshalb ist es wichtig, dass sowohl durch die Produktion, als auch durch Reinigungs- und Desinfektionsmittel die Oberflächen der Maschine nicht beschädigt werden. Allerdings kann auch Edelstahl, der im Lebensmittelbereich weit verbreitet ist, kleine Risse aufweisen (ZOTTOLA und SASAHARA 1994), in denen sich Mikroorganismen ansiedeln können. Diese Gefahr ist aber bei Aluminiumoberflächen erheblich größer, da dieses Metall gewöhnlich tiefere Risse aufweist und somit prädisponiert ist für die Behinderung von Mikroorganismen (KUMAR und ANAND 1998). Ein besonderes Problem stellt in diesem Zusammenhang die Besiedelung solcher Nischen mit Listerien dar (TOMPKIN 2002, SCHALCH 2006). Auf Grund dieser Tatsache wäre es sinnvoll, Bauteile der Maschine, die aus Aluminium gefertigt sind durch Teile aus hygienisch vorteilhafteren Materialien wie z. B. Edelstahl zu ersetzen.

Zur Prävention von Biofilmbildung führen FLINT et al. (1997) sowie GIBSON et al. (1999) die Erhöhung der Reinigungsfrequenz an, was möglicherweise auch an der getesteten Maschine sinnvoll wäre.

GIBSON et al. (1999) schlugen zur Entfernung von Biofilmen eine Kombination aus Chemie und Mechanik vor. Dies ist durch das überprüfte CIP-System nicht möglich. Hier sollte die chemische Komponente den Effekt der mechanischen mit übernehmen.

Gründliches Trocknen von Oberflächen (GENIGEORGIS 1995) stellt bei der in dieser Studie geprüften Tiefziehverpackungsmaschine momentan sicherlich ein unüberwindliches Problem dar, für die Zukunft allerdings wäre die Entwicklung eines Trockensystems eine mögliche Option, um dieses Problem zu beseitigen.

5.8 Nicht durch das CIP-System gereinigte Teile

Das geprüfte CIP-System war derart konzipiert, dass der Innenraum, die Kette und das Abführband der Tiefziehverpackungsmaschine damit gereinigt werden konnten. Die restlichen Teile, vor allem die Maschine von außen, mussten manuell gereinigt werden. Die Einführung dieses CIP-Systems optimiert zwar das Reinigungs- und Desinfektionsverfahren in der Lebensmittelindustrie, erhebt aber keinen Anspruch darauf, die manuelle Reinigung komplett zu ersetzen. Beispielsweise können größere Lebensmittelstücke, die über zu reinigenden Bauteilen liegen, mit automatischen Reinigungssystemen nicht entfernt werden. In diesem

Fälle werden optische Kontrollen auf Sauberkeit und manuelle Reinigung notwendig. Im Innenraum, an der Kette und am Abführband dient das geprüfte CIP-System sowohl der Kosten-, der Arbeits- sowie der Zeitersparnis, da dadurch die aufwendige manuelle Reinigung unzugänglicher Bereiche erspart bleibt, aber trotzdem sicheres Einhalten geforderter Reinigungs- und Desinfektionsmittelkonzentrationen sowie geforderter Einwirkzeiten gewährleistet wird.

5.9 Vorschläge zur Verbesserung des CIP-Systems

Im Rahmen dieser Studie wurde belegt, dass das geprüfte CIP-System es erlaubte, Oberflächen effektiv zu reinigen. Zur Optimierung des Systems sollten Bohrungen, in denen sich Produktreste und Mikroorganismen sammeln können, weitestgehend reduziert werden. Waagrechte Flächen sollten vermieden und durch leicht abgeschrägte oder asymmetrische mit leichter Neigung ersetzt werden. Auf Schrauben mit tiefen Rillen oder Löchern ist zu verzichten. An bisher mäßig gereinigten Stellen ist der Einbau zusätzlicher Düsen zu erwägen, um den Forderungen der Leitlinien zum Hygienesdesign (RICHTLINIE 2006/42/EG, DIN EN ISO 14159 (2008), DIN EN 1672-2 (2005), EHEDG Guidelines DOC. 8 (2004)) nachzukommen. Zur Vermeidung feuchter Stellen und der damit verbundenen Gefahr von Biofilmbildung wäre ein System zum Trocknen des Innenraums der Maschine nach erfolgter Reinigung und Desinfektion wünschenswert.

6 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein neu entwickeltes CIP-Reinigungssystem in einer Tiefziehverpackungsmaschine hinsichtlich seiner Reinigungs- und Desinfektions-Effektivität getestet. Die Überprüfung erfolgte in drei unabhängigen Versuchsreihen mit drei verschiedenen Verfahren. Zuerst wurde die Erreichbarkeit der Oberflächen in der Maschine durch das CIP-System geprüft. Dazu wurde vor dem Spülen mit Leitungswasser der zu untersuchende Bereich mit Riboflavinlösung als Markersubstanz besprüht und anschließend die Ergebnisse visuell beurteilt und durch Lichtbilder dokumentiert. Danach folgte mit einem NAD nachweisenden Testkit die Untersuchung von Oberflächen auf Produktrückstände. Vor der Versuchsdurchführung wurden dazu ausgewählte Oberflächen mit einem Kontaminationsmedium besprüht und nach Reinigung und Desinfektion mit dem Testkit beprobt. Abschließend kam das Nass-Trocken-Tupfverfahren nach DIN 10113-1 zum Einsatz, um den Reinigungserfolg durch Bestimmung der aeroben Gesamtkeimzahl zu überprüfen. Nach Kontamination der ausgewählten Stellen wurden vor und nach Reinigung und Desinfektion mit Tupfern Vergleichsproben genommen und im Labor weiterbearbeitet und ausgewertet.

Ergebnis des Riboflavintests waren großteils nicht fluoreszierende Oberflächen, also weitgehend wirkungsvolles Spülen. Fluoreszierende und damit ungenügend abgespülte Stellen waren hauptsächlich in Sprühschatten, auf waagrechten Oberflächen, in kleinen Vertiefungen und an Ansammlungen großer Schlauchmengen zu finden.

Die Ergebnisse des NAD-Tests zeigten, dass überwiegende Teile der Maschine ohne Schmutzrückstände gereinigt wurden, trotzdem aber Oberflächen zu finden waren, auf denen nach Reinigung und Desinfektion noch geringgradige bis mittelgradige Mengen organischen Schmutzes nachweisbar waren.

Die Ergebnisse des Nass-Trocken-Tupfverfahrens legten dar, dass das eingesetzte CIP-System in der Lage war, mikrobielle Kontamination von bis zu $1,1 \times 10^5$ koloniebildende Einheiten pro 25 cm^2 auf Werte unterhalb der Nachweisgrenze von $1,0 \times 10^1$ koloniebildende Einheiten pro 25 cm^2 zu reduzieren.

Zusammenfassend war festzustellen, dass das überprüfte CIP-System durchaus wirksam ist, da durch dieses System manuelle Reinigung des Maschineninnenraums stark eingeschränkt werden kann. Jedoch ist eine persönliche Kontrolle und manuelle Reinigung in größeren Zeitabständen nicht vollständig zu ersetzen.

7 Summary

In this study a recently generated CIP system in a thermoformer was tested for its cleaning and disinfection effectiveness. The inspection was carried out on the basis of three autonomous experimental series with three different methods. First, the CIP system was used in order to find out if the water for rinsing reaches all the surfaces in the machine. For this purpose the interior of the machine was sprayed with a riboflavin solution used as a marker substance before rinsing. After that the results were documented with photos. The surfaces were analysed for product residues via a test kit detecting NAD. This was carried out by spraying defined test areas with contaminating agent. After cleaning and disinfection these defined areas were sampled with the NAD kit. Afterwards, the double swab sampling method (according to DIN 10113-1) was used to verify the effectiveness determining the total viable count. After contamination of the selected areas swab samples were taken prior to and after cleaning and disinfection. These swab samples were processed and analysed in the laboratory, counted and compared.

The result of the riboflavin test indicated most parts of the machine were no longer fluorescent. Areas which were still fluorescing could especially be found in spraying shades, on horizontal surfaces, in small slots and near accumulations of hoses.

The results of the NAD test showed, that hardly any residue of soil was left in the machine. Nevertheless, there were still surfaces with little or moderate quantities of detectable organic soil left after cleaning and disinfection.

The results of the wet/dry swab technique demonstrated that the CIP system is able to decrease microbial contamination (to $1,1 \times 10^5$ colony forming units per 25 cm^2) below the detection limit of 1.0×10^1 colony forming units per 25 cm^2 .

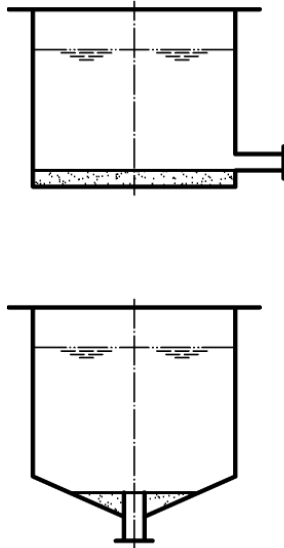
Summing up, the CIP system is indeed effective, as it reduces the manual cleaning of the interior of the machine to a minimum. However, individual control and manual cleaning cannot be substituted in total.

8 Anhang

8.1 Abbildungen zu Tabelle 2.11 (Seiten 34-36)³⁴⁾

Abbildung 8.1 Möglicher Aufbau von Behältnissen

Hygienerisiko: Gestaltung
ohne Abfluss



Akzeptabel: Gestaltung
mit Abfluss

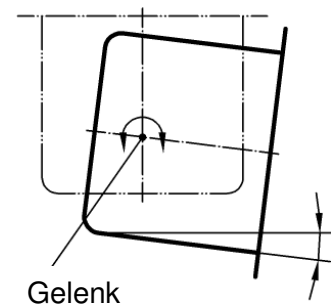
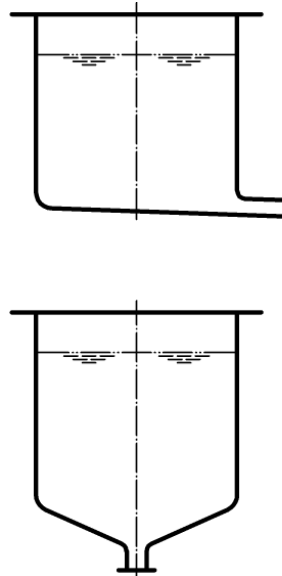
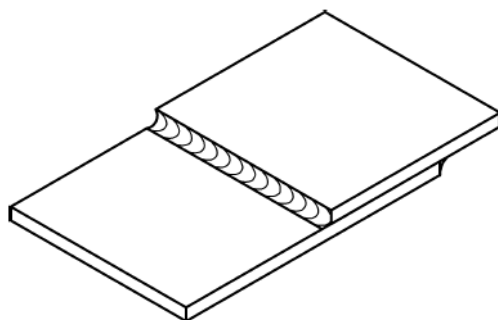
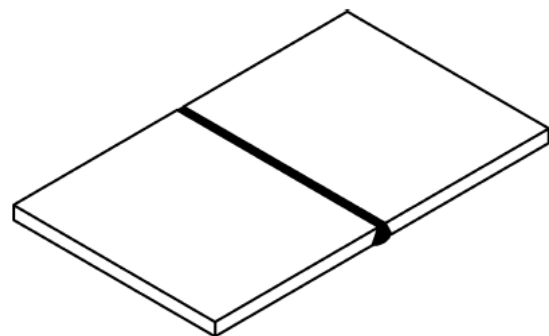


Abbildung 8.2 Alternativen bei festen geschweißten Verbindungen

Hygienerisiko: Durchgehend geschweißte
Überlappverbindung, mit Stufe



Akzeptabel: Durchgehend geschweißte
Stumpfverbindung, ohne Stufe

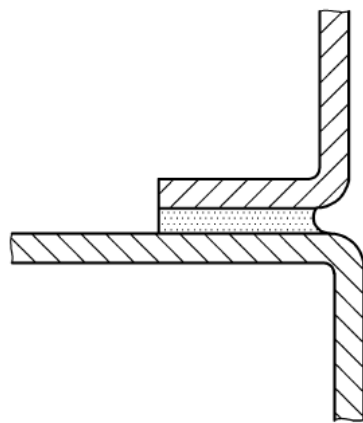
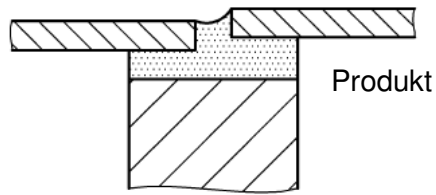


³⁴⁾ Quelle: DIN EN ISO 14159 (2008)

weiter Abbildungen zu Tabelle 2.11, Seiten 34-36

Abbildung 8.3 Feste geklebte Verbindungen

Hygienerisiko:



Akzeptabel:

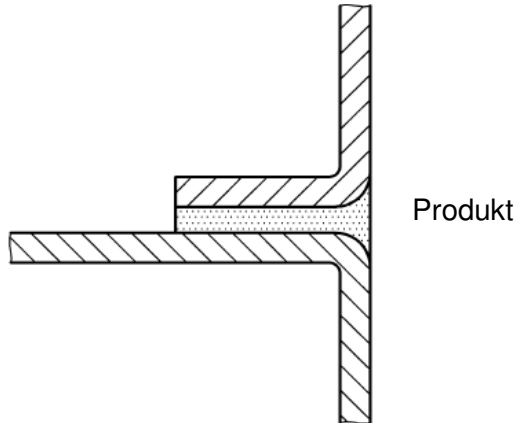
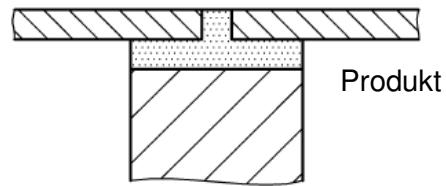
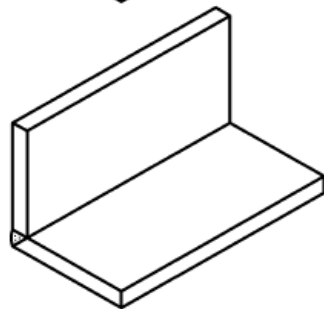
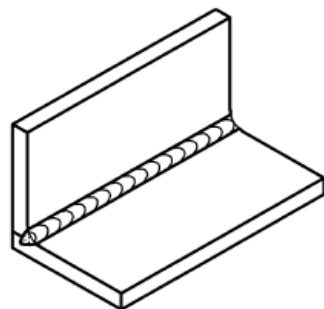
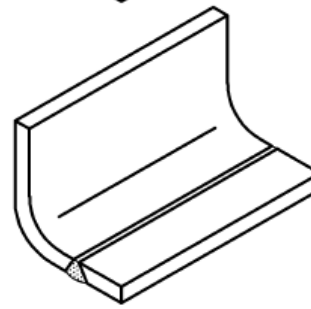
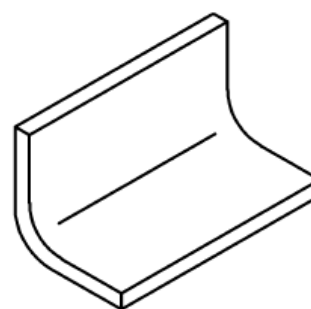


Abbildung 8.4 Innere Winkel und Ecken

Hygienerisiko:



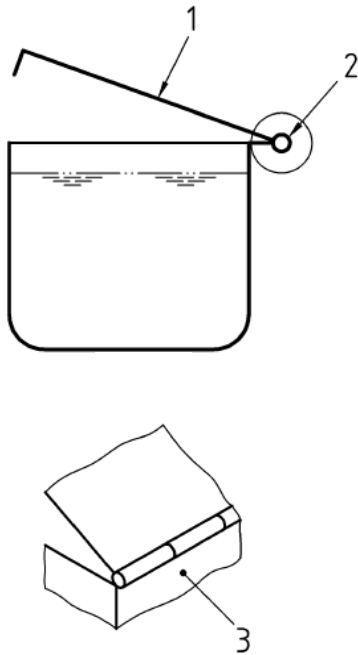
Akzeptabel:



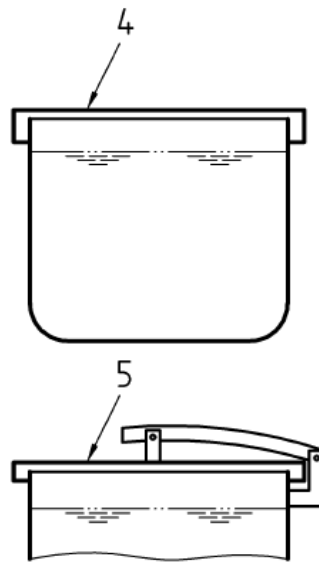
weiter Abbildungen zu Tabelle 2.11, Seiten 34-36

Abbildung 8.5 Öffnungen und Abdeckungen

Hygienerisiko:



Akzeptabel:



1 = drehbar gelagerte Abdeckung; 2 = Scharnier; 3 = Totfläche; 4 = abnehmbare Abdeckung;
5 = Scharnierabdeckung

8.2 Materialien

Im Folgenden sind für die vorliegende Studie verwendete Materialien und Hersteller aufgeführt:

Material	Hersteller
Riboflavin (CAS-Nummer 83-88-5)	FAGRON GmbH & Co. KG, Barsbüttel
Hydroxyethylcellulose (Artikelnummer 4706)	Caesar & Loretz GmbH, Hilden
Fleischsaft	Metzgerei Miller, Babenhausen
Rohmilch	Landwirt Huber, Babenhausen
Crème fraîche	Dr. Oetker, Bielefeld
Plate-Count-Agar (Bestellnummer 1.05463.0500)	Merck, Darmstadt
Pepton aus Fleisch (Bestellnummer 1.07214.1000)	Merck, Darmstadt
Natriumchlorid (Artikelnummer 106400)	Merck, Darmstadt
HY RiSE® Colour Hygiene Test Strip (Artikelnummer 1.31200.0001)	Merck, Darmstadt
Wischtücher (Artikelnummer 91181150000)	Moosmann & Co. Ravensburg
Wattetupfer Dry Swab (Artikelnummer 0482)	Herenz, Hamburg
Pipetten Eppendorf Reference (verstellbar)	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen:	
epT.I.P.S. Standard 50-1000 µl (Artikelnummer 0030 000.919)	Eppendorf, Hamburg
epT.I.P.S. Standard 2-200 µl (Artikelnummer 0030 000.870)	Eppendorf, Hamburg
Petrischalen (Artikelnummer 633180)	Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Österreich
Dispensette® 0-10 ml	Brand, Wertheim
Reagenzgläser	Schott, Mainz
Schere (Artikelnummer SI-12-2108)	Schreiber Instrumente, Friedingen/Donau
Drigalski-Spatel	Carl Roth, Karlsruhe
Schneebesen (Artikelnummer 228639)	Intergastro GmbH & Co. KG, Dortmund
Messzylinder (verschiedene Größen)	Brand, Wertheim
Erlenmeyerkolben (verschieden Größen)	Merck, Darmstadt
Reagenzglasständer	GF Diagnostika Vertriebs GmbH, Gelsenkirchen
Sprühflasche (Drucksprüher FLEXI 3131)	MESTO® Spritzenfabrik, Freiberg/Neckar

Material	Hersteller
Sprühflasche (Demi)	Haushaltswaren Wiethaler, Babenhausen
Raumluftthermometer	Kälte Riefler, Kaufbeuren
Flüssigkeitsthermometer (Artikelnummer 8150)	Egufer GmbH, Köln
Druckmanometer (Artikelnummer EN 837-1)	WIKA Manometer AG, Hitzkirch
Adapterstück für Druckmanometer	Multivac, Wolfertschwenden
UV-Lampe (Artikelnummer 51100700)	LTT VERSAND e.K., Bocholt
Analysenwaage CP3202S-OCE	Sartorius, Göttingen
Analysenwaage AC210S	Sartorius, Göttingen
Magnetrührwerk mit Heizplatte MR 2002	Heidolph Instruments, Schwabach
Vortex-Mixer	Janke & Kunkel, Hünenberg, Schweiz
Spiralplater DW SCIENTIFIC Typ WB 04 KH	Don Whitley, Shipley, United Kingdom
Brutschrank B 6060	Heraeus Instruments, Osterode
Hochdruckdampf-Sterilisator Typ 112	KSG Sterilisatoren GmbH, Olching
Kühlschrank Profi Line	Liebherr, Biberach an der Riss
Kühlbox WAECO T 26 DC	Waeco International GmbH, Emsdetten

8.3 Zusammensetzung der Lösungen, Medien und Reagenzien

Prüflösung Riboflavintest

g pro 1 L Aqua dest.

Riboflavin 0,2

Hydroxyethylcellulose 5,0

Riboflavin und Hydroxyethylcellulose mit Schneebesen in Aqua dest. eingerührt, umgehend verbraucht

Probennahme-/Verdünnungsröhrchen

g pro 1 L Aqua dest.

Pepton aus Fleisch 1,0

Natriumchlorid 8,5

pH-Wert: $7,0 \pm 0,1$

Pepton aus Fleisch und Natriumchlorid in Aqua dest. gelöst, kurz bis zum Kochen erhitzt, in Reagenzgläser abgefüllt, autoklaviert für 15 min bei + 121 °C, aufbewahrt bei + 4 °C

Plate-Count-Agar

g pro 1 L Aqua dest.

Plate-Count-Agar 22,5

pH-Wert: $7,0 \pm 0,2$ bei + 25 °C

PC-Agar in Aqua dest. durch Erhitzen gelöst, autoklaviert für 15 min bei + 121 °C, 4 mm hoch in Petrischalen gegossen, aufbewahrt bei + 4 °C

Kontaminationsmedium

ml pro 3 ml Lösung

Fleischsaft 1,0

Rohmilch 1,0

Crème fraîche 1,0

Fleischsaft, Rohmilch und Crème fraîche mit dem Schneebesen verrührt und umgehend angewendet

Verwendete Reinigungs- und Desinfektionsmittel

Verwendete Substanzen

Hersteller

Reinigung: Supergel VG03 (alkalisch), 3 %ig Johnson Diversey, Mannheim

Desinfektion: Tego 2000® (Amphotensid), 1 %ig Johnson Diversey, Mannheim

Tabelle 8.1 Ablauf des Reinigungs- und Desinfektionsprogramms Multivac „AlkalDisi“

Reinigungsgang	Zeit
Vorspülen	20 s
Einschäumen mit alkalischem Reinigungsmittel	20 s
Kontaktzeit	10 min
Nachspülen	40 s
Desinfektion mit Amphotensid	20 s
Kontaktzeit	10 min
Nachspülen	40 s

Dokumentationslisten zur Reinigungsüberprüfung

Abbildung 8.6 Muster-Checkliste Riboflavintest

Versuchsnummer: _____

Versuchsdatum: _____

Zusammensetzung Testlösung:

1000,0 ml Aqua dest.

0,2 g Riboflavin

5,0 g Hydroxyethylcellulose

Arbeitsschritte:

- Ansetzen der Testlösung nach o. g. Angaben
- Öffnen der Seitenverkleidungen und Abnehmen der Schutzabdeckungen
- Testen der UV-Lampe auf ausreichende Lichtleistung mit 1:1000-Verdünnung
- Kontrolle auf Fettfreiheit der zu prüfenden Stellen
- Herstellung der verwendungsgemäßen Stellung der Maschine
- Temperaturmessung (Spülwasser zwischen + 12 °C und + 25 °C, Raumtemperatur)
- Homogene Verteilung der Testlösung im Innenraum der Maschine mit Sprühflasche
- Schließen der Seitenverkleidungen und Auflegen der Schutzabdeckungen Ablauf der Reinigungsprozedur mit kaltem Leitungswasser (Druck, Durchfluss und Taktung entsprechend der üblichen Reinigungsprozedur)

Dokumentation:

Raumtemperatur: _____ °C

Wassertemperatur des Reinigungswassers: _____ °C

Reinigungserfolg: siehe Bilddokumentation

Anmerkungen:

**Abbildung 8.7 Muster-Checkliste und Dokumentation NAD-Schnelltest
(HY-RiSE® Colour Hygiene Test Strip)**

Versuchsnummer: _____

Datum: _____

Zusammensetzung Kontaminationsmedium: (bzw. Vielfaches davon)

- 1,0 ml Fleischsaft
- 1,0 ml Rohmilch
- 1,0 g Crème fraîche

Arbeitsschritte:

Vortag des Tests:

- Öffnen der Seitenverkleidungen und Abnehmen der Schutzabdeckungen
- Aufsuchen der zu beprobenden Stellen der Maschine
- Entfetten der Probenahmestellen

Tag des Tests:

- Ansetzen des Kontaminationsmediums
- Besprühen der Probenahmestellen mit Kontaminationsmedium
- Antrocknen des Kontaminationsmediums
- Kontrolle der Düsen und der verwendungsgemäßen Stellung der Maschine
- Schließen der Seitenverkleidungen und Auflegen der Schutzabdeckungen
- Ablauf des empfohlen Reinigungsprogramms (gespeicherter Name: Multivac AlkalDisi)
- Testdurchführung:
 - Messung Raumtemperatur
 - Reagenzien auf +15 °C bis + 25 °C temperieren
 - Beschriftung und Entnahme des Teststreifens
 - 1 Tropfen Reagenz A (Benetzungslösung) auf Testzone, außer wenn Probe-
fläche feucht
 - Testzone auf Testfläche drücken und 30 cm rückwärts ziehen (ggf. aufgeteilt
auf mehrere Teilstrecken)
 - 1 Tropfen Reagenz B (Substratlösung) auf Testzone
 - 1 Tropfen Reagenz C (Enzymlösung) auf Testzone
 - Teststreifen für 4-5 Minuten Reaktionszeit in Verpackung zurück

- Auswertung nach folgendem Schema (modifiziert nach TRAUTSCH 2003):

Verschmutzungsgrad	Kürzel	Nachgewiesenes NAD in fm	Farbveränderung
Sauber	-	0 - 999	Keine
Leichte Verunreinigung	+	1000 - 2499	Rosafärbung
Mittlere Verunreinigung	++	2500 - 9999	Violettärbung
Starke Verunreinigung	+++	10000 - 50000	Blauviolettärbung

- Dokumentation (b. w.)

Ergebnisse Versuch Nr.: 2. Datum: Temperatur: °C Wassertemperatur: °C

Probe- nahme- stelle	Waschzone (Bezeichnung nach Abbildung 3.3, Seite 41)	Material der be- probten Oberflä- che	Neigung der beprobten Oberflä- che	Ergebnis nach o. g. Schema
1	F	Edelstahl (V2A)	waagrecht, mit geringer Neigung (Winkel ca. 5°)	
2	F	Edelstahl (V2A)	senkrecht	
3	F	Aluminium eloxiert	waagrecht	
4	F	Edelstahl (V2A)	senkrecht	
5	E	Gusseisen lackiert	rund (Probennahme oben)	
6	E	Edelstahl (V2A)	senkrecht	
7	Außenrahmen 1	Edelstahl (V2A)	senkrecht	
8	E	Edelstahl (V2A)	senkrecht	
9	Kettenführung 1	Edelstahl (V2A)	waagrecht, mit geringer Neigung (Winkel ca. 5°)	
10	E	Gusseisen lackiert	senkrecht	
11	E	Aluminium eloxiert	waagrecht	
12	E	Polyoxymethylen	waagrecht	
13	E	Edelstahl (V2A)	waagrecht	
14	E	Edelstahl (V2A)	senkrecht	
15	S	Silikon	rund (Probennahme oben)	
16	S	Polyvinylchlorid	rund (Probennahme oben)	
17	S	Edelstahl (V2A)	senkrecht	
18	S	Edelstahl (V2A)	senkrecht	
19	S	Edelstahl (V2A)	senkrecht	
20	S	Edelstahl (V2A)	waagrecht, mit geringer Neigung (Winkel ca. 5°)	
21	Kettenführung 2	Edelstahl (V2A)	waagrecht, mit geringer Neigung (Winkel ca. 5°)	
22	Sch	Aluminium eloxiert	waagrecht	
23	Sch	Edelstahl (V2A)	senkrecht	
24	Außenrahmen 1	Edelstahl (V2A)	senkrecht	
25	Kette	Edelstahl (V2A)	veränderlich	
26	Abfuhrband	Polypropylen	veränderlich	

Abbildung 8.8 Muster-Checkliste und Dokumentation Nass-Trocken-Tupfertest (NTT)

Versuchsnummer: 3. _____

Datum: _____

Zusammensetzung Kontaminationsmedium: (bzw. Vielfaches davon)

1,0 ml alter Fleischsaft

1,0 ml alte Rohmilch

1,0 g Crème fraîche

Arbeitsschritte:

Vor dem Versuch:

- Herstellen der Verdünnungsröhrchen und der Plate-Count-Agar-Platten

Vortag des Versuchs:

- Öffnen der Seitenverkleidungen und Abnehmen der Schutzabdeckungen
- Aufsuchen, Abmessen und Kennzeichnen der Probenahmestellen
- Entfetten der Probenahmestellen mit Alkohol

Tag des Versuchs:

- Ansetzen der Kontaminationslösung
- Kontaminieren der Probenahmestellen mit 0,1 ml Kontaminationsmedium mit sterilem Metallspatel bzw. Sprühflasche (2 eng benachbarte Stellen)
- Antrocknen der Kontaminationslösung
- NTT-Methode an Stellen vor Reinigung und Desinfektion
 - o 1. Tupfer anfeuchten
 - o Probenahmestelle abstreichen
 - o mit 2. Tupfer Probenahmestelle trocken abstreichen
 - o Tupferköpfe in Reagenzglas
 - o kühle Lagerung der Proben
- Kontrolle der Düsen und der verwendungsgemäßen Stellung der Maschine
- Schließen der Seitenverkleidungen und Auflegen der Schutzabdeckungen
- Ablauf des empfohlenen Reinigungsprogramms (gespeicherter Name: Multivac AlkalDisi)
- NTT-Methode an Stellen nach Reinigung und Desinfektion
 - o 1. Tupfer anfeuchten
 - o Probenahmestelle abstreichen
 - o mit 2. Tupfer Probenahmestelle trocken abstreichen
 - o Tupferköpfe in Reagenzglas
 - o kühle Lagerung der Proben
- gekühlter Transport ins Labor (0 °C bis + 5 °C)

Seite 1 von 2 der Checkliste und Dokumentation Nass-Trocken-Tupfertest

Ergebnisse Versuch Nr.: 3. Datum: Temperatur: °C Wassertemperatur: °C

Probe- nahme- stelle	Waschzone (Bezeichnung nach Abbildung 3.3, Seite 41)	Material der beprob- ten Oberfläche	Neigung der beprobten Oberfläche	Ergebnis der Pro- be vor R/D	Ergebnis der Pro- be nach R/D
1	F	Edelstahl (V2A)	waagrecht, mit geringer Neigung (Winkel ca. 5°)		
2	F	Edelstahl (V2A)	senkrecht		
3	F	Aluminium eloxiert	waagrecht		
4	F	Edelstahl (V2A)	senkrecht		
5	E	Gusseisen lackiert	rund (Probennahme oben)		
6	E	Edelstahl (V2A)	senkrecht		
7	Außenrahmen 1	Edelstahl (V2A)	senkrecht		
8	E	Edelstahl (V2A)	senkrecht		
9	Kettenführung 1	Edelstahl (V2A)	waagrecht, mit geringer Neigung (Winkel ca. 5°)		
10	E	Gusseisen lackiert	senkrecht		
11	E	Aluminium eloxiert	waagrecht		
12	E	Polyoxymethylen	waagrecht		
13	E	Edelstahl (V2A)	waagrecht		
14	E	Edelstahl (V2A)	senkrecht		
15	S	Silikon	rund (Probennahme oben)		
16	S	Polyvinylchlorid	rund (Probennahme oben)		
17	S	Edelstahl (V2A)	senkrecht		
18	S	Edelstahl (V2A)	senkrecht		
19	S	Edelstahl (V2A)	senkrecht		
20	S	Edelstahl (V2A)	waagrecht, mit geringer Neigung (Winkel ca. 5°)		
21	Kettenführung 2	Edelstahl (V2A)	waagrecht, mit geringer Neigung (Winkel ca. 5°)		
22	Sch	Aluminium eloxiert	waagrecht		
23	Sch	Edelstahl (V2A)	senkrecht		
24	Außenrahmen 1	Edelstahl (V2A)	senkrecht		
25	Kette	Edelstahl (V2A)	veränderlich		
26	Abführband	Polypropylen	veränderlich		

Seite 2 von 2 der Checkliste und Dokumentation Nass-Trocken-Tupfertest

9 Literaturverzeichnis

- ALLISON, D. G.; SUTHERLAND, I. W. (1987)
The role of exopolysaccharide in adhesion of freshwater bacteria
Journal of general Microbiology **133**, 1319-1327
- ANAND, S. K.; MAHAPATRA, C. M.; PANDEY, N. K.; VERMA, S. S. (1989)
Microbial changes on chicken carcasses during processing
Indian Journal of Poultry Science **24**, 203-209
- ANTONIOU, C.; CARTER, H. (2006)
Testing a new chromatography column for cleaning effectiveness
BioPharmInternational Jan. 06, 1-6
www.biopharminternational.com, Abrufdatum: 08.10.2008
- AREVALO-FERRO, C.; REIL, G.; GÖRG, A.; EBERL, L.; RIEDEL, K. (2005)
Biofilm formation of *Pseudomonas putida* IsoF: The role of quorum sensing as assessed by proteomics
Systematic and Applied Microbiology **28**, 87-114
- ARMON, R.; ARBEL, T.; GREEN, M. (1998)
A quantitative and qualitative study of biofilm disinfection on glass, metal and PVC surfaces by chlorine, bromine and bromochloro-5,5 dimethylhydrantoin (BCDMH)
Water Science and Technology **38**, 175-179
- ARNOLD, J. W.; SILVERS, S. (2000)
Comparison of poultry processing equipment surfaces for susceptibility to bacterial attachment and biofilm formation
Poultry Science **79**, 1215-1221
- ASSELT, A. J. VAN; HOUWELINGEN, G. VAN; TE GIFFEL, M. C. (2002)
Monitoring system for improving cleaning efficiency of cleaning in place process in dairy environments
Food and Bioproducts Processing **80**, 276-280
- AUTIO, T.; KETO-TIMONEN, R.; LUNDEN, J.; BJÖRKROTH, J.; KORKEALA, H. (2003)
Characterisation of persistent and sporadic *Listeria monocytogenes* strains by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and amplified fragment length polymorphism (AFLP)
Systematic and Applied Microbiology **26**, 539-545
- BAGGE, D.; HJELM, M.; JOHANSEN, C.; HUBER, I.; GRAM, L. (2001)
Shewanella putrefaciens adhesion and biofilm formation on food processing surfaces
Applied and Environmental Microbiology **67**, 2319-2327
- BALLEY, M. (2007)
Gespräch mit Herrn M. Balley, VDMA Frankfurt, im Rahmen einer Sitzung des Arbeitskreises Riboflavintest am 13.07.2007 in Frankfurt
- BARNES, L.-M.; LO, M. F.; ADAMS, M. R.; CHAMBERLAIN, A. H. L. (1999)
Effect of milk proteins on adhesion of bacteria on stainless steel surfaces
Applied and Environmental Microbiology **65**, 4543-4548

- BASLER, V. (2002)
Prüfung ausgewählter Verfahren zur Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf verschiedenen Modellflächen und mit unterschiedlichen Bakterienkulturen
Veterinärmedizinische Dissertation Ludwig-Maximilians-Universität München
- BASLER, V.; STOLLE, A. (2000)
Zur Wiederfindungsrate der nichtdestruktiven Oberflächenuntersuchungsverfahren am Beispiel von Modellflächen
41. Arbeitstagung Arbeitsgebiet Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 25. bis 28.09.2000, 266-270
- BAUMGART, J.; MEIERJOHANN, K. (1994)
Oberflächenkeimgehalt von Frischfleisch, Schnellnachweis durch ATP-Bestimmung mit einem neuen Testkit
Fleischwirtschaft **74**, 1324
- BECKER, B.; FECHLER, J.; HOLZAPFEL, W. H. (2004)
Hygiene- und Reinigungskontrolle in der Lebensmittelkette mittels ATP-Biolumineszenz
Fleischwirtschaft **84**, 121-124
- BEECH, I. B.; GAYLARDE, C. C.; SMITH, J. J.; GEESEY, G. G. (1991)
Extracellular polysaccharides from *Desulfovibrio desulfuricans* und *Pseudomonas fluorescens* in the presence of mild stainless steel
Applied Microbiology and Biotechnology **35**, 65-71
- BERDING, H.-H. (1991)
Reinigungs- und Desinfektionstechnik - Systematische und sachgerechte Anwendung
Fleischwirtschaft **71**, 854-858
- BEUTLING, D. (1992)
Hygieneregime im Lebensmittelverkehr
In: FEHLHABER, K.; JANETSCHKE, P.: Veterinärmedizinische Lebensmittelhygiene
Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, Deutschland, 173-187
- BIRD, M. R.; BARTLETT, M. (1995)
CIP optimisation for the food industry: Relationships between detergent concentration, temperature and cleaning time
Food and Bioproducts Processing **73C**, 63-70
- BODMAN, S. B. VON; DIETZ BAUER, W.; COPLIN, D. L. (2003)
Quorum sensing in plant-pathogenic bacteria
Annual Review of Phytopathology **41**, 455-482
- BÖHM, R. (2002)
Grundlagen der Reinigung und Desinfektion
In: STRAUCH, D.; BÖHM, R.: Reinigung und Desinfektion in der Nutztierhaltung und Veredelungswirtschaft
Enke Verlag, Stuttgart, Deutschland, 2. Auflage, 19-61
- BOLES, B. R.; THOENDEL, M.; SINGH, P. K. (2004)
Self generated diversity produces "insurance effects" in biofilm communities
Proceedings of the National Academy of Sciences, USA **101**, 16630-16635

- BORE, E.; LANGSRUD, S. (2004)
Characterisation of micro-organisms isolated from dairy industry after cleaning and fogging disinfection with alkyl amine and peracetic acid
Journal of Applied Microbiology **98**, 96-105
- BOTZENHARDT, A. E. (2004)
Entwicklung eines aktuellen Hygienekonzeptes für die Weichkäseherstellung
Veterinärmedizinische Dissertation der Ludwig-Maximilians-Universität München
- BOULANGE-PETERMANN, L. (1996)
Processes of bioadhesion on stainless steel surfaces and cleanability: A review with special reference to the food industry
Biofouling **10**, 275-300
- BOULANGE-PETERMANN, L.; JULLIEN, C.; DUBOIS, P. E.; BENEZECH, T.; FAILLE, C. (2004)
Influence of surface chemistry on the hygienic status of industrial stainless steel
Biofouling **20**, 25-33
- BOWER, C. K.; DAESCHEL, M. A. (1999)
Resistance responses of microorganisms in food environments
International Journal of Food Microbiology **50**, 33-44
- BOYD, A.; CHAKRABARTY, A. M. (1995)
Pseudomonas aeruginosa biofilms: Role of the alginate exopolysaccharide
Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology **15**, 162-168
- BRÄUNIG, I.; TRENNER, P. (1996)
Experimentelle Untersuchungen zur Kontrolle der Reinigung und Desinfektion mittels Biolumineszenz
37. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 26. bis 29.09.1996, 17-23
- BREMER, P. J.; FILLERY, S.; MC QUILLAN, A. J. (2006)
Laboratory scale clean-in-place (CIP) studies on the effectiveness of different caustic and acid wash steps on the removal of dairy biofilms
International Journal of Food Microbiology **106**, 254-262
- BREMER, P. J.; MONK, I.; OSBORNE, C. M. (2001)
Survival of *Listeria monocytogenes* attached to stainless steel surfaces in the presence or absence of *Flavobacterium* spp.
Journal of Food Protection **64**, 1369-1376
- BROWN, C. M.; ELLWOOD, D. C.; HUNTER, J. R. (1977)
Growth of bacteria at surfaces: Influence of nutrient limitation
FEMS Microbiology Letters **1**, 163-166
- BROWN, M. R. W.; ALLISON, D. G.; GILBERT, P. (1988)
Resistance of bacterial biofilms to antibiotics: A growth-rate related effect?
Journal of Antimicrobial Chemotherapy **22**, 777-780
- BUCHER, M.; STOLLE, A. (2003)
Umsetzung der Entscheidung 2001/471/EG in die Praxis
43. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 24. bis 27.09.2002, 32-37

- BÜLTE, M.; STOLLE, A. (1989)
Die Einsatzfähigkeit moderner mikrobiologischer Schnellverfahren zur Untersuchung von Lebensmitteln tierischen Ursprungs
Fleischwirtschaft **69**, 1459-1463
- BUSSCHER, H. J.; WEERKAMP, A. H. (1987)
Specific and non-specific interactions in bacterial adhesion to solid substrata
FEMS Microbiology Letters **46**, 165-173
- CARPENTIER, B.; CERF, O. (1993)
Biofilm and their consequences with particular reference to hygiene in food industry
Journal of Applied Bacteriology **75**, 499-511
- CHARACKLIS, W. G. (1981)
Fouling biofilm development: A process analysis
Biotechnology and Bioengineering **23**, 1923-1960
- CHARACKLIS, W. G.; COOKSEY, K. E. (1983)
Biofilms and microbial fouling
Advances in Applied Microbiology **29**, 93-137
- CHISTI Y.; MOO-YOUNG, M. (1994)
Clean-in-place systems for industrial bioreactors; design validation and operation
Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology **13**, 201-207
- CHMIELEWSKI, R. A. N.; FRANK, J. F. (2003)
Biofilm formation and control in food processing facilities
Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety **2**, 22-32
- COSTERTON, J. W.; CHENG, K.-J.; GEESEY, G. G.; LADD, T. I.; NICKEL, J. D.; DAS-GUPTA, M.; MARRIE, T. J. (1987)
Bacterial biofilms in nature and disease
Annual Review of Microbiology **41**, 435-464
- COSTERTON, J. W.; IRVIN, R. T. (1981)
The bacterial glycocalyx in nature and disease
Annual Review of Microbiology **83**, 299-324
- COSTERTON, J. W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D. E.; KORBER, D. R.; LAPPIN-SCOTT, H. M. (1995)
Microbial biofilms
Annual Reviews of Microbiology **49**, 711-745
- COSTERTON, J. W.; MONTANARO, L.; ARCIOLA, C. R. (2007)
Bacterial communications in implant infections: A target for an intelligence war
International Journal of Artificial Organs **30**, 757-763
- CUNNINGHAM, A.; ROSS, R.; STEWART, P.; CAMPER, A.; STOODLEY, P.; LENNOX, P.; ANDERSON, V. (2006)
Biofilms: Introduction to biofilms
In: Biofilms the Hypertextbook, module 1, section 1-5
<http://www.erc.montana.edu/>, Abrufdatum: 08.10.2008

- CURIEL, G. J.; HAUSER, G.; PESCHEL, P.; TIMPERLEY, D. A. (1993)
Gestaltungskriterien für hygienegerechte Maschinen, Apparate und Komponenten
Veröffentlichung des Lehrstuhls für Maschinen- und Apparatekunde des Wissenschaftszentrums Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München
www.wzw.tum.de, Abrufdatum: 06.10.2008
- DAVEY, M. E.; O'TOOLE, G. A. (2000)
Microbial biofilms: From ecology to molecular genetics
Microbiology and Molecular Biology Reviews **64**, 847-867
- DAVIES, D. G.; CHAKRABARTY, A. M.; GEESEY, G. G. (1993)
Exopolysaccharide production in biofilms: Substratum activation of alginate gel expression by *Pseudomonas aeruginosa*
Applied and Environmental Microbiology **59**, 1181-1186
- DAVIES, D. G.; PARSEK, M. R.; PEARSON, J. P.; IGLEWAKI, B. H.; COSTERON, J. W.; GREENBERG, E. P. (1998)
The involvement of cell-to-cell signals in the development of bacterial biofilm
Science **280**, 295-298
- DE QUEIROZ, G. A.; DAY, D. F.; (2007)
Antimicrobial activity and effectiveness of a combination of sodium hypochlorite and hydrogen peroxide in killing and removing *Pseudomonas aeruginosa* biofilms from surfaces
Journal of Applied Microbiology **103**, 794-802
- DVG (DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT) (2003)
6. Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) für den Lebensmittelbereich
Veröffentlicht im Deutschen Tierärzteblatt 07/2003
- DVG (DEUTSCHE VETERINÄRMEDIZINISCHE GESELLSCHAFT) (2007)
Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel
In: BODENSCHATZ, W.: Desinfektion – Rechtsvorschriften und Materialien
Behr's Verlag, Hamburg, Deutschland, Band 1, 4.18 (aktualisiert 12.2007)
- DEWANTI, R.; WONG, A. C. L. (1995)
Influence of culture conditions on biofilm formation by *Escherichia coli* O157:H7
International Journal of Food Microbiology **26**, 147-164
- DRESCH, M.; DAUFIN, G.; CHAUFER, B. (1999)
Membrane process for the recovery of dairy cleaning in place solutions
Lait **79**, 245-259
- DRESCH, M.; DAUFIN, G.; CHAUFER, B. (2001)
Integrated membrane regeneration process for dairy cleaning in place
Separation and Purification Technology **22-23**, 181-191
- DRESSLER, U. (1997)
Hygienische Gefahrenanalyse und Kontrollpunkte bei der Verarbeitung von Lebensmitteln tierischer Herkunft für die kalte Küche in Großküchen der Bundeswehr
Veterinärmedizinische Dissertation der Freien Universität Berlin

- DUDDRIDGE, J. E.; KENT, C. A.; LAWS, J. F. (2004)
Effect of surface shear stress on the attachment of *Pseudomonas fluorescens* to stainless steel under defined flow conditions
Biotechnology and Bioengineering **24**, 153-164
- DUNSMORE, D. G.; TWOMEY, A.; WITTLESTONE, W. G.; MORGAN, H. W. (1981)
Design and performance of systems for cleaning product-contact surfaces of food equipment: A review
Journal of Food Protection **44**, 220-240
- EDELMEYER, H. (1983)
Erst reinigen, dann desinfizieren – Zwei Stationen auf dem Weg zur optimalen Betriebshygiene
Fleischwirtschaft **63**, 1016-1030
- EGINTON, P. J.; HOLAH, J.; ALLISON, D. G.; HANDLEY, P. S.; GILBERT, P. (1998)
Changes in the strength of attachment of micro-organisms to surfaces following treatment with disinfectants and cleansing agents
Letters in Applied Microbiology **27**, 101-105
- EIDE, M. H.; HOMLEID, J. P.; MATTSON, B. (2003)
Life cycle assessment (LCA) of cleaning-in-place processes in dairies
Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie **36**, 303-314
- EINSCHÜTZ, K. (2004)
Wirksamkeitsprüfung verschiedener Verfahren zur Verminderung der Keimbelastung auf Handgeräten der Fleischgewinnung
Veterinärmedizinische Dissertation der Freien Universität Berlin
- ELLERBROEK, L. (2002)
Zur Umsetzung der Entscheidung 2001/471/EG für die mikrobiologische Kontrolle der allgemeinen Hygiene in Fleischlieferbetrieben gemäß Artikel 10(2) der Richtlinie 64/433/EWG
43. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 24. bis 27.09.2002, 32-37
- ERNST, C. (2003)
Optimierung von Desinfektionsverfahren in Verpflegungs- und Betreuungseinrichtungen der Bundeswehr im Hinblick auf die *Bacillus cereus*-Belastung von Oberflächen und Lebensmitteln
Veterinärmedizinische Dissertation der Freien Universität Berlin
- EVANS, D. J.; ALLISON, D. G.; BROWN, M. R.; GILBERT, P. (1991)
Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* biofilms toward ciprofloxacin: Effect of specific growth rate
Journal of Antimicrobial Chemotherapy **27**, 177-184
- EXNER, M. (2005)
Gutachterliche Stellungnahme zur Wirksamkeit von Brauseschläuchen mit FlexClean®-Technologie gegen Biofilme
Institut für Hygiene und öffentliche Gesundheit der Universität Bonn
<http://www.bubble-rain.de/PDF/Ergebnisbericht-fc.pdf>, Abrufdatum: 08.10.2008
- FAILLE, C.; FONTAINE, F.; BENEZECH, T. (2001)
Potential occurrence of adhering living *Bacillus* spores in milk product processing lines
Journal of Applied Microbiology **90**, 892-900

FAILLE, C.; JULLIEN, C.; FONTAINE, F.; BELLON-FONTAINE, M.-N.; SLOMIANNY, C.; BENEZECH, T. (2002)

Adhesion of *Bacillus* spores and *Escherichia coli* cells to inert surfaces: Role of surface hydrophobicity

Canadian Journal of Microbiology **48**, 728-738

FEDERLE, M. J.; BASSLER, B. L. (2003)

Interspecies communication in bacteria

Journal of Clinical Investigation **112**, 1291-1299

FLEMMING, H.-C. (1994)

Biofouling und Biokorrosion – Die Folgen unerwünschter Biofilme

Chemie Ingenieur Technik **67**, 1425-1430

FLEMMING, H.-C.; WINGENDER, J. (2002)

Was Biofilme zusammenhält

Chemie in unserer Zeit **36**, 30-42

FLETCHER, M.; LOEB, G. I. (1979)

Influence of substratum characteristics in the attachment of a marine pseudomonad to solid surfaces

Applied and Environmental Microbiology **37**, 67-72

FLINT, S. H.; BREMER, P. J.; BROOKS, J. D. (1997)

Biofilms in dairy manufacturing plants – Description, current concerns and methods of control
Biofouling **11**, 81-97

FLINT, S.; PALMER, J.; BLOEMEN, K.; BROOKS, J.; CRAWFORD, R. (2001)

The growth of *Bacillus stearothermophilus* on stainless steel

Journal of Applied Microbiology **90**, 151-157

FRANK, J. F.; KOFFI, R. A. (1990)

Surface-adherence growth of *Listeria monocytogenes* is associated with increased resistance to surfactant sanitizers and heat

Journal of Food Protection **53**, 550-554

FRYER, P. J.; CHRISTIAN, G. K.; LIU, W. (2006)

How hygiene happens: Physics and chemistry of cleaning

International Journal of Dairy Technology **59**, 76-84

GALLOT-LAVALLEE, T.; LALANDE, M.; CORRIEU, G. (1984)

Cleaning kinetics modelling of holding tubes fouled during milk pasteurisation

Journal of Food Process Engineering **7**, 123-142

GANDHI, M.; CHIKINDAS, M. L. (2007)

Listeria: A foodborne pathogen that knows how to survive

International Journal of Food Microbiology **113**, 1-15

GENIGEORGIS, C. (1995)

Biofilm: Their significance to cleaning in meat sector

In: BURT, S. A.; BAUER, F.: New challenges in meat hygiene: Specific problems in cleaning and disinfection

European Consortium for Continuing Education in Advanced Meat Science and Technology, 29-47

- GERSTEIN, J.; ORTH, R.; BAUMGART, J. (1993)
Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen – Mikrobiologische Bewertung im Bereich der Zerlegeabteilung eines Fleischwarenbetriebes
Fleischwirtschaft **73**, 740- 744
- GIBSON, H.; TAYLOR, J. H.; HALL, K. E.; HOLAH, J. T. (1999)
Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of removal of bacterial biofilms
Journal of Applied Microbiology **87**, 41-48
- GIERSE, S.; BABEL, W. (2002)
Einsatz von HY-RiSE im Rahmen der betriebseigenen Kontrollen nach §§ 3 und 4 LMHV
Kongress des Bundesverbandes der beamteten Tierärzte in Bad Staffelstein von 22. bis 23.04.2002
- GIESE, J. (1991)
Sanitation: The key to food safety and public health
Food Technology **45**, 74-80
- GILBERT, P.; DAS, J.; FOLEY, I. (1997)
Biofilm susceptibility to antimicrobials
Advances in Dental Research **11**, 160-167
- GILLHAM, C. R.; FRYER, P. J.; HASTING, A. M. P.; WILSON, D. I. (1999)
Cleaning-in-place of whey protein fouling deposits: Mechanisms controlling cleaning
Food and Bioproducts Processing **77C2**, 94-102
- GOLL, M.; KRATZHELLER, B.; BÜLTE, M. (2004)
Rapid control of the cleaning status
Fleischwirtschaft International **4**, 39-41
- GRASSHOFF, A. (1992)
Hygienic design – The basis for computer controlled automation
Food and Bioproducts Processing **70C2**, 69-77
- GREENBERG, E. P. (2003)
Tiny teamwork
Nature **424**, 134
- GRIFFITHS, M. W. (1996)
The role of ATP bioluminescence in the food industry: New light on old problems
Journal of Food Technology **31**, 62-72
- GRIMM, M.; STEPHAN, R.; IVERSEN, C.; MANZARDO, G. G. G.; RATTEI, T.; RIEDEL, K.; RUEPP, A.; FRISHMAN, D.; LEHNER, A. (2008)
Cellulose as an extracellular matrix component present in *Enterobacter sakazakii* biofilms
Journal of Food Protection **71**, 13-18
- GUNDUZ, G. T.; TUNCEL, G. (2006)
Biofilm formation in an ice cream plant
Antonie van Leeuwenhoek **89**, 329-336

- HAAS, A.; PLATZ, S.; EICHHORN, W.; KAADEN, O.-R.; UNSHELM, J. (1998)
Untersuchungen zum Effekt der Dampfeinwirkung anhand mikrobiologischer und parasitologischer Prüfverfahren
Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin **201**, 337-347
- HÄRKÖNEN, P.; SALO, S.; MATTILA-SANDHOLM, T.; WIRTANEN, G.; ALLISON, D. G.; GILBERT, P. (1999)
Development of a simple in vitro test system for the disinfection of bacterial biofilms
Water Science Technology **39**, 219-225
- HAUSER, G. (1992)
Hygienic design of moving parts of machines in the food industry
Food and Bioproducts Processing **70C**, 138-142
- HAUSMANN, R.; KAUFMANN, H.-J.; RICHTER, K. (1996)
Neue Tablettentechnologie mit zentrifugaler Matritzenfüllung und vollautomatischer Reinigung
Pharmazeutische Industrie **58**, 824-846
- HAVAS, F (1995)
Wirkung von Reinigung und Desinfektion – Kontrolle mit mikrobiologischen Verfahren
Fleischwirtschaft **75**, 272-274
- HECHELMANN, H. (1995)
Schlacht- und Zerlegebetrieb – Auffindung kritischer Kontrollpunkte
Fleischwirtschaft **75**, 267- 271
- HEGNAUER, B. (2007)
Gespräch mit Herrn B. Hegnauer, Obmann des Arbeitskreises Riboflavintest im Rahmen einer Sitzung dieses Arbeitskreises in Frankfurt am Main am 13.07.2007
- HEILIGENTHAL, A. (1995)
Überprüfung der Effizienz von Reinigung und Desinfektion in einem Fleischgewinnungsbetrieb
Veterinärmedizinische Dissertation der Freien Universität Berlin
- HENTZER, M.; RIEDEL, K.; RASMUSSEN, T. B.; HEYDORN, A.; ANDERSEN, J. B.; PARSEK, M. R.; RICE, S. A.; EBERL, L.; MOLIN, S.; HØIBY, N.; KJELLEBERG, S.; GIVSKOV, M. (2002)
Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound
Microbiology **148**, 87-102
- HERALD, P. J.; ZOTTOLA, E. A. (1988a)
Attachment of *Listeria monocytogenes* to stainless steel surfaces at various temperatures and pH values
Journal of Food Science **53**, 1549-1562
- HERALD, P. J.; ZOTTOLA, E. A. (1988b)
Scanning electron microscopic examination of *Yersinia enterocolitica* attached stainless steel at selected temperatures and pH values
Journal of Food Protection **51**, 445-448

- HILDEBRANDT, G. (2004)
 Sauberkeit – Ein kritischer Kontrollpunkt?
 Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung **56**, 151-152
- HILLER, P.; HILDEBRANDT, G.; KRÄMER, R. (1995)
 Ermittlung des Hygienestatus in Lebensmittelfilialbetrieben
 Archiv für Lebensmittelhygiene **46**, 77-80
- HIROSE, I.; SANO, K.; SHIODA, I.; KUMANO, M.; NAKAMURA, K.; YAMANE, K. (2000)
 Proteome analysis of *Bacillus subtilis* extracellular proteins: A two-dimensional protein electrophoretic study
 Microbiology **146**, 65-75
- HOFBAUER, P.; REISINGER, T.; PAULSEN, P. (1997)
 Agarkontaktverfahren und ATP-Messung: Feldversuche zur Reinigungskontrolle in fleischverarbeitenden Betrieben
 38. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 29.09. bis 02.10.1997, 464-467
- HOFMANN, J.; SOMMER, K. (2006)
 Hygienic Design von Anlagen und deren Qualifizierungsmethoden
 Chemie Ingenieur Technik **78**, 1605-1614
- HOLAH, J. T.; KEARNEY, I. R. (1992)
 Introduction to biofilms in the food industry
 In: MELO, L. F.; BOTT, T. R.; FLETCHER, M.; CAPDEVILLE, B.: Biofilms-Science and Technology
 Kluwer Academic Press, Dordrecht, Niederlande, 35-41
- HOLAH, J. T.; TAYLOR, J. H.; DAWSON, D. J.; HALL, K. E. (2002)
 Biocide use in the food industry and the disinfectant resistance of persistent strains of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*
 Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement **92**, 111S-120S
- HOLAH J. T.; THORPE, R. H. (1990)
 Cleanability in relation to bacterial retention on unused and abraded domestic sink materials
 Journal of Applied Bacteriology **69**, 599-608
- HOOD, S. K.; ZOTTOLA, E. A. (1997)
 Growth media and surface conditioning influence the adherence of *Pseudomonas fragi*, *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* cells to stainless steel
 Journal of Food Protection **60**, 1034-1037
- HORN, H.; WÄSCHE, S.; HEMPEL, D. C. (2002)
 Simulation of biofilm growth, substrate conversation and mass transfer under different hydrodynamic conditions
 Water Science and Technology **46**, 249-252
- HOY, S. (1996)
 Reinigung und Desinfektion in der Fleisch- und Lebensmittelverarbeitung
 Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung **48**, 195-198

- HUSMARK, U.; RÖNNER, U. (1992)
The influence of hydrophobic electrostatic and morphologic property on the adhesion of *Bacillus* spores
Biofouling **5**, 335-344
- JABLONSKI, F.; TEUBLER, C. (2007)
Hygienic Design im Fokus
Hygienic Design in Automation, Oktober 2007, 1-2
www.lebensmitteltechnik-online.de, Abrufdatum: 04.10.2008
- JENSEN, B. B.; FRIIS, A. (2005)
Predicting the cleanability of mix-proof valves by use of wall shear stress
Journal of Food Process Engineering **28**, 89-106
- JONES, C. R.; ADAMS, M. R.; ZHDAN, P. A.; CHAMBERLAIN, A. H. L. (1999)
The role of surface physiochemical properties in determining the distribution of the autochthonous microflora in mineral water bottles
Journal of Applied Microbiology **86**, 917-927
- JOSEPH, B.; OTTA, S. K.; KARUNASAGAR, I. (2001)
Biofilm formation by *Salmonella* spp. on food contact surfaces and their sensitivity to sanitizers
International Journal of Food Microbiology **64**, 367-372
- JOUENNE, T.; VILAIN, S.; COSETTE, P.; JUNTER, G.-A. (2004)
Proteomics of biofilm bacteria
Current Proteomics **1** (3), 211-219
- JUHAS, M.; EBERL, L.; TÜMMLER, B. (2005)
Quorum sensing: The power of cooperation in the world of *Pseudomonas*
Environmental Microbiology **7**, 459-471
- KANG, Y.-J.; FRANK, J. F. (1990)
Characteristics of biological aerosols in dairy processing plants
Journal of Dairy Science **73**, 621-626
- KELCH, F.; FRIES, H. (1959)
Durchführung bakteriologischer Kontrollen in Fleisch verarbeitenden Betrieben
Fleischwirtschaft **39**, 1011-1018
- KEWELOH, H. (2006)
Die Kolonisierung von Oberflächen durch Mikroorganismen: Eigenschaften von Biofilmen und Bekämpfungsmöglichkeiten (Vortrag)
www.mikrobiol.de, Abrufdatum: 07.10.2008
- KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E. (2001)
Decontamination of a multilaminated aseptic food packaging material and stainless steel by ozone
Journal of Food Safety **21**, 1-13
- KIM, K. Y.; FRANK, J. F. (1995)
Effect of nutrients on biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel
Journal of Food Protection **58**, 24-28

- KIRCHER, D.; BÜLTE, M.; REUTER, G. (1995)
Eignung eines Biolumineszenzverfahrens zur Überprüfung der Reinigung und Desinfektion im Bereich der Lebensmittelverarbeitung
Fleischwirtschaft **76**, 987-903
- KIRCHER, D.; REUTER, G. (1996)
Untersuchungen zur Effizienz von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen an Oberflächen von Fleischtransportfahrzeugen
37. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 26. bis 29.09.1996, 83-91
- KLEINER, U. (1990)
Barrieren für die Desinfektion – Ein Hygienierisiko in der Lebensmittelverarbeitung
31. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 02. bis 05.10.1990, 24-25
- KLEINER, U. (1998)
Reinigung und Desinfektion in Lebensmittelbetrieben – Ein Grunderfordernis des allgemeinen Hygienegebotes
39. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 22. bis 25.09.1998, 176-181
- KLEINER, U. (2000)
Zur Aussagekraft von Tupferabstrichproben im Rahmen von Hygienekontrollen
Fleischwirtschaft **80**, 118-121
- KLEINER, U.; WELLHÄUSER, R. (2000)
Norm DIN Reinigung und Desinfektion verabschiedet – Ein weiterer Beitrag zu Leitlinien für eine gute Lebensmittelhygienepaxis
41. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 25. bis 28.09.2000, 500-506
- KNAUER-KRAETZL, B.; BUSCHULTE, A.; SOMMERER, M.; REUTER, G. (1993)
Wirkstoffe in Desinfektionsmitteln für den Lebensmittelbereich – Vorteile und limitierende Faktoren
34. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 28.09. bis 01.10.1993, 125-131
- KNAUER-KRAETZL, B.; REUTER, G. (1992)
Wirkstoffe in DVG-gelisteten Desinfektionsmitteln für den Lebensmittelbereich – Bewertungsversuch nach biologischen Kriterien
33. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 29.09. bis 02.10.1992, 103-114
- KOUTZAYIOTIS, C. (1992)
Bacterial biofilms in milk pipelines
South African Journal of Dairy Science **24**, 19-22
- KRAFT, M. (2008)
Rahmenbedingungen und Anforderungen zur Gewährleistung der technischfunktionellen Sicherheit aufbereiteter Medizinprodukte
Medical Data Institute, <http://www.md-institute.com>, Abrufdatum: 08.10.2008

- KRAMER, A.; SCHUBERT, R. (1998)
Empfehlungen und Prüfmethode zur maschinellen Reinigung und Desinfektion von Instrumenten für die minimal-invasive Chirurgie
In: BODENSCHATZ, W.: Desinfektion - Rechtsvorschriften und Materialien
Behr's Verlag, Hamburg, Deutschland, Band 1, 4.15
- KRATZHELLER, B.; HEITMANN, M.; BÜLTE, M. (2002)
Ein Beitrag zur Bedeutung von Resistenzen gegenüber Desinfektionsmitteln
43. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 24. bis 27.09.2002, 734-739
- KRÖMKER, V. (2007)
Kurzes Lehrbuch Milchkunde und Milchhygiene
Parey, Stuttgart, 43-45
- KRYSINSKI, E. P.; BROWN, L. J.; MARCHISELLO, T. J. (1992)
Effect of cleaners and sanitizers on *Listeria monocytogenes* attached to product contact surfaces
Journal of Food Protection **55**, 246-252
- KÜCHENHOFF, H.; MAHLING, M. (2007)
Beratungsgespräch im Rahmen der vorliegenden Dissertation am Institut für Statistik der Ludwig-Maximilians-Universität München am 20.12.2007
- KULOW, W. (2007)
Leitlinien für eine gute Verfahrenspraxis – Bedeutung und Anwendung im neuen Hygienerecht
48. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 25. bis 28.09.2007
- KUMAR, C. G.; ANAND, S. K. (1998)
Significance of microbial biofilms in food industry: A review
International Journal of Food Microbiology **42**, 9-27
- LAUFENBERG, A. (1990)
Schaumreinigung in der fleischverarbeitenden Industrie
31. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 02. bis 05.10.1990, 39-49
- LAZAROVA, V.; PIERZO, V.; FONTVIELLE, D.; MANEM, J. (1994)
Integrated approach for biofilm characterisation and biomass activity control
Water Science Technology **29**, 345-354
- LE CLERCQ-PERLAT, M. N.; LALANDE, M. (1994)
Cleanability in relation to surface chemical composition and surface finishing of some materials commonly used in food industries
Journal of Food Engineering **23**, 501-517
- LEE, H.-W.; KOH, Y. M.; KIM, J.; LEE, J.-C.; LEE, Y.-C.; SEOL, S.-Y.; CHO, D.-T. (2008)
Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces
Clinical Microbiology and Infection **14**, 49-54

- LELIEVELD, H. L. M. (1985)
Hygienic design and test methods
Journal of the Society of Dairy Technology **38**, 14-16
- LELIEVELD, H. L. M. (1994)
HACCP and hygienic design
Food Control **5**, 140-144
- LELIEVELD, H. M. L.; MOSTERT, M. A.; CURIEL, G. J. (2003)
Hygiene equipment design
In: LELIEVELD, H. M. L.; MOSTERT, M. A.; HOLAH, J.; WHITE, B.: Hygiene in food processing
Woodhead Publishing Limited, Abington, Cambridge, England
- LELIEVRE, C.; LEGENTILHOMME, P.; GAUCHER, C.; LEGRAND, J.; FAILLE, C.; BENEZECH, T. (2002)
Cleaning in place: Effect of local wall shear stress variation on bacterial removal from stainless steel equipment
Chemical Engineering Science **57**, 1287-1297
- LEON-OHL, A.; HORN, H.; HEMPEL, D. C. (2004)
Behaviour of biofilm systems under varying hydrodynamic conditions
Water Science Technology **49**, 345-351
- LERICHE, V.; CARPENTIER, B. (1995)
Viable but non-culturable *Salmonella* Typhimurium in single and binary species biofilms in response to chlorine treatment
Journal of Food Protection **58**, 1186-1191
- LINDSAY, D.; BRÖZEL, V. S.; MOSTERT, J. F.; HOLY, A. VON (2000)
Physiology of dairy-associated *Bacillus* spp. over a wide pH range
International Journal of Food Microbiology **10**, 49-62
- LINDSAY, D.; BRÖZEL, V. S.; MOSTERT, J. F.; HOLY, A. VON (2002)
Differential efficacy of a chlorine dioxide-containing sanitizer against single species and binary biofilms of a dairy-associated *Bacillus cereus* and a *Pseudomonas fluorescens* isolate
Journal of Applied Microbiology **92**, 352-361
- LINDSAY, D.; HOLY, A. VON (2006)
What food safety professionals should know about bacterial biofilms
British Food Journal **108**, 27-37
- LIU, Z. H.; MACCHIETTO, S. (2005)
Cleaning in place policies for a food processing batch pilot plant
Food and Bioproducts Processing **71C**, 194-196
- LOOSDRECHT, M. C. M. VAN; NORDE, W.; ZEHNDER, A. J. B. (1990)
Physical and chemical description of bacterial adhesion
Journal of Biomaterials Applications **5**, 91-106
- LOUWERS, J.; KLEIN, G. (1994a)
Eignung von Probenahmemethoden zur Umgebungsuntersuchung in fleischgewinnenden und -verarbeitenden Betrieben mit EU-Zulassung
Berliner Münchner Tierärztliche Wochenschrift **107**, 367-373

- LOUWERS, J.; KLEIN, G. (1994b)
Zur Probeentnahmetechnik bei der mikrobiologischen Prozeßkontrolle
35. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 27. bis 30.09.1994, 65-74
- LOUWERS, J.; UPMANN, M.; KLEIN, G.; REUTER, G. (1995)
Zur Aussagekraft des Einfachen Tupfverfahrens (DIN-Entwurf 10113-2) auf Modelloberflächen
36. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 26. bis 29.09.1995, 78-85
- MAFU, A. A.; ROY, D.; GOULET, J.; SAVOIE, L. (1991)
Characterization of physiochemical forces involves in adhesion of *Listeria monocytogenes* to surfaces
Applied and Environmental Microbiology **57**, 1969-1973
- MARRIOTT, N. G. (1992)
Grundlagen der Lebensmittelhygiene
Behr's Verlag, Hamburg, Deutschland
- MARSHALL, K. C. (1992)
Biofilms: An overview of bacterial adhesion, activity and control surfaces
American Society for Microbiology News **58**, 202-207
- MARSHALL, K. C.; STOUT, R.; MITCHELL, R. (1971)
Mechanisms of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces
Journal of General Microbiology **68**, 337-348
- MATTILA, T.; MANNINEN, M.; KYLASIUIROLA, A. L. (1990)
Effect of cleaning- in-place disinfectants on wild bacterial strains isolated from a milking line
Journal of Dairy Research **57**, 33-39
- MATTILA-SANDHOLM, T.; WIRTANEN, G. (1992)
Biofilm formation in the industry: A review
Food Reviews International **8**, 573-603
- MAYER, J. (2004)
Reinigung und Desinfektion und Umweltschutz
In: KLEINER, U.: Praxisleitfaden Reinigung und Desinfektion
Behr's Verlag, Hamburg, Deutschland, 125-132
- MAYER, C.; MORITZ, R.; KIRSCHNER, C.; BORCHARD, W.; MAIBAUM, R.; WINGENDER, J.; FLEMMING, H. C. (1999)
The role of intermolecular interactions: Studies on model systems for bacterial biofilms
International Journal of Biological Macromolecules **26**, 3-16
- MEHNERT, W. H.; SCHÖNEBERG, I.; AMMON, A. (2000)
Darminfektionen (Gastroenteritiden) beim Menschen - Vorbemerkungen
In: Deutscher Trendbericht über den Verlauf und die Quellen von Zoonosen-Infektionen nach der Zoonosen-RL (92/117/EWG) für 2000, 9-10
Nationales Referenzlabor für die Epidemiologie der Zoonosen
<http://www.13.ages.at>, Abrufdatum: 04.10.2008

- MELO, L. F.; BOTT, T. R.; FLETCHER, M.; CAPDEVILLE, B. (1992)
Biofilms – Science and technology
Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Niederlande
- MEYER, B. (2003)
Approaches to prevention, removal and killing of biofilms
International Biodeterioration and Biodegradation **51**, 249-253
- MIDELET, G.; CARPENTIER, B. (2004)
Impact of cleaning and disinfection agents on biofilm structure and on microbial transfer to a solid model food
Journal of Applied Microbiology **97**, 262-270
- MITTELMAN, M. W. (1998)
Structure and functional characteristics of biofilms in fluid processing operations
Journal of Dairy Science **81**, 2760-2764
- MIURA, Y.; WATANABE, Y.; OKABE, S. (2007)
Membrane biofouling in pilote scale membrane bioreactors (MBRs) treating municipal wastewater: Impact of biofilm formation
Environmental Science and Technology **41**, 632-638
- MOJE, M.; HECHELMANN, H. (1995)
Biolumineszenz-Schnellmethode: Eine Möglichkeit zur Überprüfung von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen?
Mitteilungsblätter der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach **34**, 193-198
- MØRETRØ, T.; LANGSRUD, S. (2004)
Listeria monocytogenes: Biofilm formation and persistence in food-processing environments
In: WILSON, M.: Biofilms
Cambridge University Press **1**, 107-121
- MOSTELLER, T. M.; BISHOP, J. R. (1993)
Sanitizer efficacy against bacteria in a milk biofilm
Journal of Food Protection **56**, 34-41
- MROZEK, H. (2006)
Desinfektionsmittel
In: WILDBRETT, G.: Reinigung und Desinfektion in der Lebensmittelindustrie
Behr's Verlag, Hamburg, Deutschland, 2. Auflage, 56-72
- MURMANN, D.; HEYDE, U. VON DER (1994)
Einfluss von Temperatur und Zeit auf den Keimgehalt von Abstrichtupfern
Tierärztliche Umschau **49**, 100-103
- NIKAIDO, H.; VAARA, M. (1985)
Molecular basis of bacterial outer membrane permeability
Microbiological Reviews **49**, 1-32
- N.N. (2000)
Zum Forschungsnetzwerk Lebensmittelinfektionen in Deutschland
Epidemiologisches Bulletin **1**, 3-4
<http://www.rki.de>, Abrufdatum: 08.10.2008

- N.N. (2004)
Anforderungen an die Hygiene bei der Reinigung und Desinfektion von Flächen; Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert Koch-Institut Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz **47**, 51-61
- N.N. (2008a)
Aktuelle Statistik meldepflichtiger Infektionskrankheiten
Epidemiologisches Bulletin **3**, 26
<http://www.rki.de>, Abrufdatum: 08.10.2008
- N.N. (2008b)
Biofilm
<http://de.wikipedia.org/wiki/Biofilm>, Abrufdatum: 08.10.2008
- N.N. (2008c)
Branche in Zahlen - Fakten 2007
www.kunststoffverpackungen.de, Abrufdatum: 15.01.2008
- N.N. (2008d)
Center of Biofilm Engineering Montana State University
<http://www.erc.montana.edu/>, Abrufdatum: 08.10.2008
- N.N. (2008e)
Fragen und Antworten zum Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP)-Konzept
In: BODENSCHATZ, W.: Desinfektion – Rechtsvorschriften und Materialien
Behr's Verlag, Hamburg, Deutschland, Band 4, 29.2 (aktualisiert: 08.2008)
- NORWOOD, D. E.; GILMOUR, A. (2000)
The growth and resistance to sodium hypochlorite of *Listeria monocytogenes* in a steady-state multispecies biofilm
Journal of Applied Microbiology **88**, 512-515
- NOTERMANS, S.; DOORMANS, J. A. M. A.; MEAD, G. C. (1991)
Contribution of surface attachment to the establishment of micro-organisms in food processing plants: A review
Biofouling **5**, 21-36
- OOSTHUIZEN, M. C.; STEYN, B.; THERON, J.; COSETTE, P.; LINDSAY, D.; HOLY, A. VON; BRÖZEL, V. S. (2002)
Proteomic analysis reveals differential protein expression by *Bacillus cereus* during biofilm formation
Applied and Environmental Microbiology **68**, 2770-2780
- ORTH, R.; STEIGERT, M. (1996)
Praxiserfahrung mit der ATP-Biolumineszenzmeßmethode zur Kontrolle des Hygiene-Zustandes nach Reinigung in einem Fleischzerlegebetrieb
Fleischwirtschaft **76**, 40-41
- PARKAR, S. G.; FLINT, S. H.; BROOKS, J. D. (2003)
Physiology of biofilms of thermophilic bacilli-potential consequences for cleaning
Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology **30**, 553-560

- PARKAR, S. G.; FLINT, S. H.; BROOKS, J. D. (2004)
Evaluation of the effect of cleaning regimes on biofilms of thermophilic bacilli on stainless steel
Journal of Applied Microbiology **96**, 110-116
- PESCI, E. C.; MILBANK, J. B. J.; PEARSON, J. P.; MC KNIGHT, S.; KENDE, A. S.; GREENBERG, E. P.; IGLEWSKI, B. H. (1999)
Quinolone signalling the cell-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*
Proceedings of the National Academy of Sciences **96**, 11229-11234
- PEYTON, B. M.; CHARACKLIS, W. G. (1992)
A statistical analysis of the effect of substrate utilisation and shear stress on the kinetics of biofilm detachment
Biotechnology and Bioengineering **41**, 728-735
- PFANNEBERG, W.; ZRENNER, K. M. (1993)
Hygiene-Leitlinien für handwerkliche Metzgereien, Frischfleischabteilungen, landwirtschaftliche Direktvermarktung
Fachbuchverlag Dr. Pfanneberg & Co., Gießen, Leipzig, Deutschland
- PFANNENSCHMIDT, F.; KRÖMKER, V.; VERSPOHL, J.; HAMANN, J. (2001)
Zum Einsatz des Nass-Trocken-Tupfverfahrens (DIN 10113; 1997-07) zur Beurteilung des mikrobiologischen Status milchführender Oberflächen
42. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 25. bis 28.09.2001, 39-42
- PICIOREANU, C.; LOOSDRECHT, M. C. VAN; HEIJNEN, J. J. (2001)
Two dimensional model of biofilm detachment caused by internal stress from liquid flow
Biotechnology and Bioengineering **72**, 205-218
- PLESS, P.; PLETZ, H. (1995)
Zur Aussagekraft von Abklatschuntersuchungen bei der Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes von Schlachtkörpern und sanitären Oberflächen
36. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 26. bis 29.09.1995, 63-67
- PLETT, E. A. (1985)
Cleaning of fouled surfaces
In: LUND, D. B.; PLETT, E.; SANDU, C.: Fouling and cleaning in food processing
University of Madison, Wisconsin, USA
- POGGEMANN, H.-M.; BAUMGART, J. (1996)
Hygienemonitoring durch ATP-Bestimmung mit dem System HY-LITE™
Fleischwirtschaft **76**, 132-133
- POULSEN, L. V. (1999)
Microbial biofilm in food processing
Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie **32**, 321-326
- PURKL, H. (2003)
Vergleichende Untersuchungen zur Einsatzfähigkeit des Nass-Trocken-Tupfverfahrens und der Schwämmchentechnik als Probenentnahmefethoden im Rahmen der routinemäßigen Überwachung des Oberflächenkeimgehaltes sowie der Salmonellenbelastung von Schweineschlachtkörpern beim Fleischgewinnungsprozess
Veterinärmedizinische Dissertation der Justus-Liebig-Universität Gießen

PURKL, H.; BÜLTE, M. (2002)

Vergleichende Untersuchungen zur Einsatzfähigkeit des Nass-Trocken-Tupfverfahrens und der Schwämmchentechnik als Probenahmemethoden bei Schlachttierkörpern

43. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch Partenkirchen von 24.09. bis 27.09.2002, 791-796

RADER, B. A.; CAMPAGNA, S. R.; SEMMELHACK, M. F.; BASSLER, B. L.; GUILLEMIN, K. (2007)

The quorum-sensing molecule autoinducer 2 regulates motility and flagellar morphogenesis in *Helicobacter pylori*

Journal of Bacteriology **189**, 6109-6117

RAMASAMY, P.; ZHANG, X. (2005)

Effect of shear stress on the secretion of extracellular polymeric substances in biofilms

Water Science and Technology **52**, 217-223

RAM, R. J.; VERBERKMOES, N. C.; THELEN, M. P.; TYSON, G. W.; BAKER, B. J.; BLAKE, R. C.; SHAH, M.; HETTICH, R. L.; BANFIELD, J. F. (2005)

Community proteomics of a natural microbial biofilm

Science **308**, 1915-1920

RASMUSSEN, T. B.; MANEFIELD, M.; ANDERSEN, J. B.; EBERL, L.; ANTHONI, U.; CHRISTOPHERSEN, C.; STEINBERG, P.; KJELLEBERG, S.; GIVSKOV, M. (2000)

How *Delisea pulchra* furanones affect quorum sensing and swarming motility in *Serratia liquefaciens* MG1

Microbiology **146**, 3237-3244

RAVELHOFER-ROTHENEDER, K. (2004)

Neuordnung des EG-Lebensmittelhygienerechts – Mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel

45. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 28.09. bis 1.10.2004, 12-15

RAVELHOFER-ROTHENEDER, K.; ROTHENEDER, R. (2005)

Das neue Lebensmittelrecht der Gemeinschaft – Mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel

46. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 27. bis 30.09.2005, 202-206

READING, N. C.; SPERANDIO, V. (2006)

Quorum sensing: The many languages of bacteria

FEMS Microbiology Letters **254**, 1-11

REINEMANN, D. J.; WONG, A. L. C.; RABOTSKI, E. (1993)

“Interaction of chemical, thermal and physical actions on the removal of bacteria from milk contact surfaces”

Präsentation am 1993 International Winter Meeting des ASAE (The American Society of Agricultural Engineers) in Chicago, Illinois, USA von 14. bis 17.12.1993, Paper No. 933536

REUTER, G. (1986)

Hygiene der Fleischgewinnung und -verarbeitung

Zentralblatt der Bakteriologie und Hygiene **183**, 1-22

- REUTER, G. (1994)
Zur Wirksamkeit von Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen bei der Fleischgewinnung und -verarbeitung
Fleischwirtschaft **74**, 808-813
- ROCKHOFF, J. (2006)
Vergleichende Untersuchung von Alternativmethoden zur Desinfektionsmittelprüfung nach DVG-Richtlinie
Veterinärmedizinische Dissertation der Universität Leipzig
- ROMPRE, A.; PREVOST, M.; COALLIER, J.; BRISEBOIS, P.; LAVOIE, J. (2000)
Impacts of implementing a corrosion control strategy on biofilm growth
Water Science and Technology **41**, 287-294
- RONNER, A. B.; WONG, A. C. L. (1993)
Biofilm development and sanitizer inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium on stainless steel and Buna-N rubber
Journal of Food Protection **56**, 750-758
- RÖNNER, U.; HUSMARK, U.; HENRIKSSON, A. (1990)
Adhesion of *Bacillus* spores in relation to hydrophobicity
Journal of Applied Bacteriology **69**, 550-556
- RUDOLPH, M.; KRÖKER, J.; SAHNER, G. (1995)
Von der Qualitätskontrolle zur Qualitätssicherung
Fleischwirtschaft **75**, 974-976
- RÜHLMANN, S.; FELDHUSEN, F. (1995)
Untersuchungen zur Aussagekraft verschiedener Oberflächenabklatschsysteme bei unterschiedlichen Materialien
36. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 26. bis 29.09.1995, 55-62
- SACHS, L. (2004)
Angewandte Statistik – Anwendung statistischer Methoden
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, Deutschland, 11. Auflage
- SALUSTIANO, V. C.; ANDRADE, N. J. DE; BRANDAO, S. C. C.; MOREIRA JUNIOR, W.; NACIFE, G. P. (2004)
An assessment of chemical sanitizers on the microbiological profile of air in a milk processing plant
Journal of Food Safety **24**, 159-167
- SAUER, K. (2003)
The genomics and proteomics of biofilm formation
Genome Biology **4**, 219
- SCHALCH, B. (2004)
Die Entscheidung 471 und ihre praktische Umsetzung - Entscheidungskriterien für den praktischen Tierarzt
Vortrag im Rahmen einer Fortbildung für amtliche Tierärzte und Amtstierärzte der Bayerischen Landestierärztekammer und des Instituts für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs der LMU München in Oberschleißheim im März 2004

SCHALCH, B. (2006)

Listeria monocytogenes in Lebensmitteln – Diagnostik und Bedeutung

Vortrag beim Schleißheimer Forum am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in Oberschleißheim am 15.11.2006

SCHMIDHOFER, T. (1988)

Untersuchungsmethoden

In: PRÄNDL, O.; FISCHER, A.; SCHMIDHOFER, T.; SINELL, H.-J.: Fleisch: Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung

Ulmer-Verlag, Stuttgart, Deutschland, 679-753

SCHMIDT, U. (1984)

Reinigungsmittel in der Fleischwirtschaft – Vergleichende Untersuchungen zur Wirksamkeit
Fleischwirtschaft **64**, 1231-1236

SCHMIDT, U. (1989)

Cleaning and disinfection methods – Effect of rinsing on surface bacterial count

Fleischwirtschaft **69**, 71-74

SCHMIDT, U.; BEM, Z. (1978)

Wie soll im Fleischwarenbetrieb gereinigt und desinfiziert und die Wirkung kontrolliert werden?

Fleischwirtschaft **58**, 1482-1485

SCHMIDT, U.; LEISTNER, L. (1981)

Reinigung und Desinfektion in der Fleischwirtschaft

In: SCHLIESSER, T.; STRAUCH, D.: Desinfektion in Tierhaltung, Fleisch- und Milchwirtschaft

Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, Deutschland, 326-406

SCHÖNENBRÜCHER, V.; BÜLTE, M. (2004)

Überprüfung von Reinigung und Desinfektion mittels Abklatschverfahren gemäß Entscheidung 2001/471/EG: Ergebnisse aus EU-registrierten Schlachtbetrieben

45. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 28.09. bis 01.10.2004, 529-532

SCHROEDER, K. (1993)

Reinigung und Desinfektion im Fleischwarenbetrieb

In: Praxis der Hygieneüberwachung durch den amtlichen Tierarzt

Bayerische Landestierärztekammer, München, 27-39

SCHULENBURG, J.; BERGMANN, T. (2000)

Gesamtkeimzahlbestimmung mit Impedanztechnik - Probleme und deren Ursachen

Fleischwirtschaft **80**, 146-150

SCHULZE, G.; HILDEBRANDT, G. (1995)

Vergleichende Untersuchungen mit der Naß-Trocken-Tupfer-Technik und dem RODAC-Abklatschverfahren

36. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 26. bis 29.09.1995, 68-77

SCHUSTER, A.; DETTENKOFER, M. (2007)

Oberflächen im Krankenhaus: Reinigung und Desinfektion

Krankenhaushygiene up to date **3**, 233-248

- SIKKEMA, J.; DE BONT, J. A. M.; POOLMAN, B. (1995)
Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons
Microbiological Reviews **59**, 201-222
- SINGH, A.; KUHAD, R. C.; SAHAI, V.; GOSH, P. (1994)
Evaluation of biomass
Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology **51**, 48-70
- SJÖBERG, A.-M.; WIRTANEN, G.; MATTILLA-SANDHOLM, T. (1995)
Biofilm and residue investigations of detergents on surfaces of food processing equipment
Food and Bioproducts Processing **73C**, 17-21
- SPERNER, B; STOLLE, A. (2007)
Neufassung des EU-Lebensmittelhygienerechts – Prinzipien und Probleme
Amtstierärztlicher Dienst **14**, 70-76
- SREENIVASAN, P. K.; CHORNY, R. C. (2005)
The effect of disinfectant foam on microbial biofilms
Biofouling **21**, 141-149
- STÄHLE, S. (1999)
Leitlinien für gute Hygienepaxis – Aus der Sicht der Wirtschaftsseitigen Koordinierungsstelle
40. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 29.09. bis 01.10.1999, 62-68
- STANLEY, P. M. (1983)
Factors affecting the irreversible attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to stainless steel
Canadian Journal of Microbiology **29**, 1493-1499
- STELLMACHER, W.; SCHOLZ, K.; PREISLER, K. (1974)
Desinfektion
Gustav Fischer Verlag, Jena, Deutschland, 2. Auflage
- STEWART, J. C.; SEIBERLING, D. A. (1996)
The secret's out clean in place
Chemical Engineering **103**, 72-79
- STOLLE, A. (1980)
Prüfung der Effektivität von Reinigungsverfahren
Schlachten und Vermarkten **80**, 103-107
- STOLLE, A.; MAASSEN, C.; MAHLER, C.; KAUFMANN, S. (2005)
Managementsysteme für Lebensmittelsicherheit – Rechtliche Anforderungen, Überprüfung, Bewertung
Vortrag für die Moxsel-Akademie in Ulm am 13.4.2005
- STORGARDS, E.; SIMOLA, H.; SJÖBERG, A. M.; WIRTANEN, G. (1999)
Hygiene of gasket materials used in food processing equipment part 2: Aged materials
Food and Bioproducts Processing **77**, 146-155
- STREIT, W.; FLEMMING, H.-C.; WENDEROTH, D. (2004)
Internationale Biofilm-Konferenz
Biospektrum **10**, 420

- TEUFEL, P. (1984)
Reinigung und Desinfektion bei Gewinnung und Verarbeitung von Fleisch
Fleischwirtschaft **64**, 675-681
- THEVENOT, D.; DELIGNETTE-MULLER, M. L.; CHRISTIEANS, S.; VERNZOY-ROZAND, C. (2006)
Prevalence of *Listeria monocytogenes* in 13 dried sausage processing plants and their products
International Journal of Food Microbiology **102**, 85-94
- THIEL, W. (1980)
Betriebshygiene und Technologie in Großküchen
Fleischwirtschaft **60**, 1871-1875
- THOMAS, S. B.; GRIFFITHS, E.; ELSON, K.; BEBINGTON, N. B. (1955)
Die Eignung der Tupferprobe zur Bestimmung des Bakteriengehaltes von Molkereieinrichtungen
Milchwissenschaft **10**, 352
- TOMPKIN, R. B. (2002)
Control of *Listeria monocytogenes* in the food processing environment
Journal of Food Processing **65**, 709-725
- TRACHOO, N. (2003)
Biofilms and the food industry
Journal of Science and Technology **25**, 807-815
- TRAUTSCH, M. (2003)
Eignung eines neuen Schnelltests zur Prüfung der Oberflächenreinheit im Rahmen betrieblicher Eigenkontrollen in Lebensmittelbetrieben
Veterinärmedizinische Dissertation der Ludwig-Maximilians-Universität München
- UNTERMANN, F. (2001)
Lebensmittelsicherheit: Entwicklung eines Konzeptes zur Kontrolle der betriebseigenen Maßnahmen und Kontrollen nach §4 der Lebensmittelhygiene-Verordnung (LMHV)
Bundesministerium für Gesundheit, Forschungsbericht vom 06.03.2001
<http://bmg.bund.de>, Abrufdatum: 08.10.2008
- UNTERMANN, F.; DURA, U. (1996)
Das HACCP-Konzept: Theorie und Praxis
Fleischwirtschaft **76**, 700-706
- VERRAN, J. (2002)
Biofouling in food processing: Biofilm or biotransfer potential?
Food and Bioproducts Processing **80C**, 292-298
- WALLHÄUSSER, K. H. (1995)
Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Konservierung, Keimidentifizierung, Betriebshygiene
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Deutschland, 5. Auflage
- WAWERLA, M.; SCHALCH, B.; EISGRUBER, H. (1996)
Einsatz der Impedanzmessung zum Nachweis von *Clostridium perfringens* in Lebensmitteln
37. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 30.09. bis 02.10.1996, 229-239

- WEBER, R.; ZENS, W.; BÜLTE, M. (1997)
Kontrolle der Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen im Fleischverarbeitungsbereich mit unterschiedlichen Verfahren unter besonderer Berücksichtigung des Swab N Check-Tests
38. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelhygiene der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft e.V. in Garmisch-Partenkirchen von 29.09. bis 02.10.1997, 574-578
- WERLEIN, H.-D. (2001)
Biolumineszenz: Möglichkeiten und Grenzen zur Keimzahlbestimmung und Hygienekontrolle
Symposium Schnellmethoden und Automatisierung in der Lebensmittelhygiene, 04.-06.07.2001, FH Lippe/Lemgo
- WHITEHEAD, N. A.; BARNARD, A. M.; SLATER, H.; SIMPSON, N. J.; SALMOND, G. P. (2001)
Quorum sensing in gram-negative bacteria
FEMS Microbiological Review **25**, 365-404
- WILDBRETT, G. (2006)
Reinigung und Desinfektion in der Lebensmittelindustrie
Behr's Verlag, Hamburg, Deutschland, 2. Auflage, 40-56
- WIRTANEN, G.; HUSMARK, U.; MATTILA-SANDHOLM, T. (1996)
Microbial evaluation of the biotransfer potential from surfaces with *Bacillus* biofilms after rinsing and cleaning procedures in closed food-processing systems
Journal of Food Protection **59** (7), 727-733
- WONG, A. C. L. (1998)
Biofilms in food processing environments
Journal of Dairy Science **81**, 2765-2770
- ZECHEL, P.; BUCHER, M.; STOLLE, A. (2006)
Handbuch zur Einführung und Umsetzung betrieblicher Eigenkontrollsysteme für handwerklich strukturierte Metzgereien
Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs, Oberschleißheim
www.lmhyg.de, Abrufdatum: 07.10.2008
- ZHANG, L.-H.; DONG, Y.-H. (2004)
Quorum sensing and signal interference: Diverse implications
Molecular Microbiology **53**, 1563-1571
- ZHANG, T. C.; BISHOP, P. L. (1994)
Structure, activity and composition of biofilm
Water Science Technology **29**, 335-344
- ZOBELL, C. E. (1943)
The effect of solid surfaces upon bacterial activity
Journal of Bacteriology **46**, 39-56
- ZOTTOLA, E. A. (1994)
Microbial attachment and biofilm formation: A new problem for the food industry?
Food Technology **48**, 107-114
- ZOTTOLA, E. A.; SASAHARA, K. C. (1994)
Microbial biofilms in the food processing industry – Should they be a concern?
International Journal of Food Microbiology **23**, 125-148

Rechtliche Vorschriften und Normen

VERORDNUNG (EG) Nr. 852/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 über Lebensmittelhygiene (ABl. L 139 vom 30.4.2004)

VERORDNUNG ÜBER SICHERHEIT UND GESUNDHEITSSCHUTZ BEI TÄTIGKEITEN MIT BIOLOGISCHEN ARBEITSSSTOFFEN (BIOSTOFFVERORDNUNG - BioStoffV) vom 27.01.1999 (BGBl. I S. 50), zuletzt geändert durch Artikel 2 der Verordnung vom 06.03.2007 (BGBl. I S. 261)

GESETZ ÜBER DIE HAFTUNG FÜR FEHLERHAFTE PRODUKTE (PRODUKTHAFTUNGSGESETZ - ProdHaftG)

in der Fassung der Bekanntmachung vom 15. Dezember 1989, BGBl. I S. 2198, zuletzt geändert durch Art. 9 Abs. 3 des Gesetzes vom 19. Juli 2002, BGBl. I S. 2674

GESETZ ÜBER MEDIZINPRODUKTE (MEDIZINPRODUKTEGESETZ - MPG)

in der Fassung der Bekanntmachung vom 7. August 2002, BGBl. S. 3146, geändert am 25. November 2003, BGBl. S. 2304

RICHTLINIE 98/37/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 22. Juni 1998 zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedsstaaten für Maschinen (ABl. L 207 vom 23.7.1998 S. 1-46)

RICHTLINIE 2006/42/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 17. Mai 2006 über Maschinen und zur Änderung der Richtlinie 95/16/EG (Neufassung) (ABl. L 157/24 vom 9.6.2006)

AMTLICHE SAMMLUNG VON UNTERSUCHUNGSVERFAHREN NACH § 64 LFGB (2006)

Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L 06.00-18: Bestimmung der aeroben Keimzahl bei 30 °C in Fleisch und Fleischerzeugnissen; Spatel- und Plattengussverfahren

Beuth Verlag, Berlin, Deutschland

ENTSCHEIDUNG 2001/471/EG der Kommission vom 8. Juni 2001 über Vorschriften zur regelmäßigen Überwachung der allgemeinen Hygienebedingungen durch betriebseigene Kontrollen gemäß Richtlinie 64/433/EWG über die gesundheitlichen Bedingungen für die Gewinnung und das Inverkehrbringen von frischem Fleisch und Richtlinie 71/118/EWG zur Regelung gesundheitlicher Fragen beim Handelsverkehr mit frischem Geflügelfleisch (ABl. L 165 vom 21.06.2001, S. 48)

DIN 10113-1 (1997)

Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf Einrichtungs- und Bedarfsgegenständen im Lebensmittelbereich, Teil 1: Quantitatives Tupfverfahren

Deutsches Institut für Normung e. V.

Beuth Verlag, Berlin, Deutschland

DIN 10113-2 (1997)

Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf Einrichtungs- und Bedarfsgegenständen im Lebensmittelbereich, Teil 2: Semiquantitatives Tupfverfahren

Deutsches Institut für Normung e. V.

Beuth Verlag, Berlin, Deutschland

DIN 10113-3 (1997)

Bestimmung des Oberflächenkeimgehaltes auf Einrichtungs- und Bedarfsgegenständen im Lebensmittelbereich, Teil 3: Semiquantitatives Verfahren mit Nährbodenbeschichteten Entnahmeverrichtungen (Abklatschverfahren)

Deutsches Institut für Normung e. V.

Beuth Verlag, Berlin, Deutschland

DIN 10516 (2001)

Lebensmittelhygiene – Reinigung und Desinfektion

Deutsches Institut für Normung e. V.

Beuth Verlag, Berlin, Deutschland

DIN EN ISO 14159 (2008)

Sicherheit von Maschinen – Hygieneanforderungen an die Gestaltung von Maschinen (ISO 14159:2002); Deutsche Fassung EN ISO 14159:2008

Deutsches Institut für Normung e. V.

Beuth Verlag, Berlin, Deutschland

DIN EN 1672-2 (2005)

Nahrungsmittelmaschinen – Allgemeine Gestaltungsgrundsätze – Teil 2: Hygieneanforderungen; Deutsche Fassung EN 1672-2:2005

Deutsches Institut für Normung e. V.

Beuth Verlag, Berlin, Deutschland

EHEDG (European Hygienic Engineering & Design Group) GUIDELINES DOC. 8 (2004)

erarbeitet von: HAUSER, G.; CURIEL, G. J.; BELLIN, H.-W.; CNOSSEN, H. J.; HOFMANN, J.; KASTELEIN, J.; PARTINGTON, E.; PELTIER, Y.; TIMPERLEY, A. W.: Hygienic equipment design criteria second edition, April 2004

CCFRA Technology Ltd., Chipping Campden, UK, 2. Auflage

MERKBLATT RIBOFLAVINTEST FÜR KEIMARME ODER STERILE VERFAHRENSTECHNIKEN (2007)

Fluoreszenztest zur Prüfung der Reinigbarkeit für Lebensmittel, Aseptik, Pharmazie und Chemie

Verband Deutscher Maschinen- und Anlagenbau e. V. (VDMA)

Veröffentlichung im Rahmen dieser Dissertation

SCHALCH, B.; WINTER, P. (2007)

Desinfektion und Biofilm

Vortrag auf der Tagung „Lebensmittelwissenschaften im Fokus“ der DECHEMA e.V. in Frankfurt am Main von 5. bis 6.11.2007

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1 Parameter stärkster Anhaftung von Bakterien species auf rostbeständigem Edelstahl	6
Tabelle 2.2 Einfluss der Oberfläche auf das Anhaftungsverhalten verschiedener Mikroorganismen.....	8
Tabelle 2.3 Einflüsse hydrodynamischer Verhältnisse auf Biofilme.....	9
Tabelle 2.4 Präventionsmaßnahmen gegen Biofilmbildung	11
Tabelle 2.5 Berichtete Reduktionsraten von Oberflächenkeimzahlen	13
Tabelle 2.6 Temperatur und deren Auswirkungen auf Reinigung und Desinfektion	16
Tabelle 2.7 Beispiele der Beeinflussung verschiedener Mikroorganismen durch Reinigung und Desinfektion.....	18
Tabelle 2.8 Wirkungsspektren der wichtigsten Desinfektionsmittelgruppen	21
Tabelle 2.9 Durchschnittlicher Anfall von Stickstoff und Phosphor aus Milchresten bei der Spülphase während eines CIP-Reinigungsdurchlaufs in Molkereien	24
Tabelle 2.10 Vergleichende Darstellung maßgeblicher Anforderungen zum hygienischen Design von Konstruktionswerkstoffen.....	33
Tabelle 2.11 Vergleichende Darstellung maßgeblicher Anforderungen zum hygienischen Design bezüglich Gestaltung und Herstellung im Lebensmittelbereich	34
Tabelle 3.1 Probenahmestellen, Waschzone, Material und Oberflächenneigung.....	46
Tabelle 3.2 Bewertungsschema des NAD-Tests.....	48
Tabelle 4.1 Drücke, Wasserdurchflussmengen und deren arithmetische Mittelwerte an den verschiedenen Reinigungsdüsen der Maschine bei Wasserdurchfluss.....	57
Tabelle 4.2 Ergebnisse des NAD-Schnelltests	60
Tabelle 4.3 Ergebnisse des NAD-Schnelltests geordnet nach Oberflächenneigung	61
Tabelle 4.4 Ergebnisse des NAD-Schnelltests geordnet nach Oberflächenmaterial	62
Tabelle 4.5 Ergebnisse des NTT-Verfahrens vor und nach Reinigung und Desinfektion	64
Tabelle 4.6 Keimzahlreduktion (lg) aus Ergebnissen des NTT-Verfahrens vor und nach R/D und daraus errechnete arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen	66
Tabelle 4.7 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion durch R/D auf Edelstahloberflächen	68
Tabelle 4.8 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion durch R/D auf eloxierten Aluminiumoberflächen	69
Tabelle 4.9 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion durch R/D auf Oberflächen aus lackiertem Gusseisen	69
Tabelle 4.10 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion durch R/D auf Kunststoffoberflächen.....	69

Tabelle 4.11 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion durch R/D auf senkrecht stehenden Flächen.....	70
Tabelle 4.12 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion durch R/D auf waagrechten Flächen	70
Tabelle 4.13 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion durch R/D auf geringgradig geneigten Oberflächen	71
Tabelle 4.14 Arithmetische Mittelwerte \bar{x} der Keimzahlreduktion durch R/D auf runden Oberflächen.....	71
Tabelle 5.1 Bewertungsschema zur Beurteilung des R/D-Erfolges bei Einsatz des NTT-Verfahrens.....	80
Tabelle 5.2 Bewertung des R/D-Erfolges an den einzelnen Probenahmestellen im NTT-Verfahren	81
Tabelle 8.1 Ablauf des Reinigungs- und Desinfektionsprogramms Multivac „AlkalDisi“	94

11 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1 Darstellung eines Reinigungs- und Desinfektionsablaufs.....	14
Abbildung 2.2 Zürcher Hygienehaus.....	26
Abbildung 3.1 Tiefziehverpackungsmaschine Multivac R 535.....	39
Abbildung 3.2 Einsicht in Maschine von schräg oben im Bereich "Einlegestrecke".....	41
Abbildung 3.3 Nummerierung und Verteilung der Düsen in der Tiefziehverpackungsmaschine	41
Abbildung 3.4 Flussdiagramm zum Ablauf des Riboflavintests.....	44
Abbildung 3.5 Flussdiagramm zum Ablauf des NAD-Tests.....	47
Abbildung 3.6 Flussdiagramm zum Ablauf des Nass-Trocken-Tupferprüfverfahrens.....	50
Abbildung 3.7 Tupferführung auf den Probenahmeflächen im NTT-Verfahren.....	51
Abbildung 3.8 Foto eines Kettenglieds	52
Abbildung 3.9 Weiterverarbeitung der Proben im Labor	53
Abbildung 3.10 Schablone zum Auszählen der Kolonien beim Spiralplatterverfahren.....	55
Abbildung 4.1 Komplette von Riboflavin-lösung befreite Maschinenteile	58
Abbildung 4.2 Reste der Riboflavinlösung auf unvollständig abgespülten waagrechten Flächen	58
Abbildung 4.3 Nicht abgespülte Riboflavinlösung in Bohrlöchern	58
Abbildung 4.4 Unvollständig abgespülte Riboflavinlösung im Sprühschatten der Düsen in der Waschzone Formen	58
Abbildung 4.5 Riboflavinlösungsreste im Bereich von Schlauchbündeln	58
Abbildung 4.6 Ergebnisse des NTT-Verfahrens in verschiedenen Keimzahlbereichen	67
Abbildung 8.1 Möglicher Aufbau von Behältnissen	88
Abbildung 8.2 Alternativen bei festen geschweißten Verbindungen.....	88
Abbildung 8.3 Feste geklebte Verbindungen	89
Abbildung 8.4 Innere Winkel und Ecken	89
Abbildung 8.5 Öffnungen und Abdeckungen	90
Abbildung 8.6 Muster-Checkliste Riboflavintest.....	95
Abbildung 8.7 Muster-Checkliste und Dokumentation NAD-Schnelltest.....	96
Abbildung 8.8 Muster-Checkliste und Dokumentation Nass-Trocken-Tupfertest.....	99

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. mult. A. Stolle für die freundliche Aufnahme am Institut und die großzügige Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Frau PD Dr. B. Schalch für die Überlassung des Themas, für die immer freundliche, hilfsbereite Betreuung und Beratung und für die umgehende Beantwortung all meiner Fragen während der Planung und Durchführung sowie die sorgfältige Korrektur dieser Arbeit.

Frau U. Demuth, Frau H. Dietz, Frau S. Holzmann und Frau U. Scheffler, sowie Frau J. Hoffmann für ihre stets große Hilfe und ihr Entgegenkommen bei meinen Arbeiten im Labor.

den wissenschaftlichen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern sowie Frau U. Tobisch für ihre Beratung und Unterstützung bei allen die Arbeit betreffenden Angelegenheiten und für alle guten Tipps.

Herrn Prof. Dr. H. Küchenhoff und Frau M. Mahling für die Beratung am Institut für Statistik der LMU.

allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Firma Multivac, Wolfertschwenden, die mir während der Anfertigung dieser Arbeit unterstützend zur Seite gestanden sind, insbesondere Herrn T. Slomp, Herrn E. Ehrmann, Herrn I. Ruzic, Frau K. Zondler, Herrn H. Holzapfel, Frau A. Grott, Herrn R. Maier und Herrn F. Nobis.

Frau S. Bertele, Frau M. Miller und Herrn M. Wieland für die kurzfristige große Hilfe beim Korrekturlesen dieser Arbeit und bei der Übersetzung der Zusammenfassung ins Englische.

meinen Eltern, die mich bei meinem Studium und während der Anfertigung dieser Arbeit immer bestens unterstützt haben. Ohne euch wäre dies nicht gegangen!

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Philipp Winter

Geburtsdatum: 10.08.1980

Geburtsort: Memmingen

Familienstand: ledig

Mutter: Christina Winter, geb. Salger
Medizinisch-kaufmännische Assistentin

Vater: Georg Winter
Bäcker- und Konditormeister

Bruder: Thiemo Winter
Bäckermeister, Betriebswirt des Handwerks

Schulausbildung:

Sept. 1987 – Juli 1991 Grundschule Babenhausen

Sept. 1991 – Juni 2000 Simpert Kraemer-Gymnasium Krumbach (Abschluss: Abitur)

Zivildienst:

Juli 2000 – Juni 2001 Pflege und Betreuung im Altenheim Babenhausen

Studium:

Okt. 2001 – März 2007 Tiermedizin an der LMU München (Staatsexamen am 20. März 2007)

23. März 2007 Approbation als Tierarzt

April 2007 Beginn der vorliegenden Doktorarbeit am Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs der Tierärztlichen Fakultät der LMU München

Seit Juli 2008 Angestellter Tierarzt am Veterinäramt in Mindelheim/Landkreis Unterallgäu